



**UNIVERSITE D'ANTANANARIVO**

**Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques**



# THÈSE

Présentée à l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques d'Antananarivo  
en vue de l'obtention du diplôme de **DOCTORAT EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

par :

**Lalajaona RANDRIAMANANTSOA**

## **EFFET D'APPORTS DE RESIDUS DE LEGUMINEUSE ET DE FUMIER SUR LA PHYTODISPONIBILITE DU PHOSPHORE DU SOL DANS UN FERRALSOL DU MOYEN OUEST DE MADAGASCAR**

Soutenue le 19 avril 2013 devant le jury composé de :

<b>Jean RASOARAHONA</b>	Professeur ESSA, Université d'Antananarivo	Président
<b>Christian MOREL</b>	Docteur / HDR INRA, Bordeaux	Rapporteur
<b>Jean Chrysostôme RANDRIAMBOAVONJY</b>	Professeur ESSA, Université d'Antananarivo	Rapporteur
<b>Tantely RAZAFIMBELO</b>	Professeur ESSA, Université d'Antananarivo	Examineur
<b>Thierry BECQUER</b>	Docteur / HDR IRD, Madagascar	Examineur
<b>Lilia RABEHARISOA</b>	Professeur ESSA, Université d'Antananarivo	Directeur de thèse
<b>Emmanuel FROSSARD</b>	Professeur ETH, Zürich	Directeur de thèse



**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

**FNSNF**  
SWISS NATIONAL SCIENCE FOUNDATION









**UNIVERSITE D'ANTANANARIVO**

**Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques**

# **THÈSE**

Présentée à l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques d'Antananarivo  
en vue de l'obtention du diplôme de **DOCTORAT EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

par :

**Lalajaona RANDRIAMANANTSOA**

## **EFFET D'APPORTS DE RESIDUS DE LEGUMINEUSE ET DE FUMIER SUR LA PHYTODISPONIBILITE DU PHOSPHORE DU SOL DANS UN FERRALSOL DU MOYEN OUEST DE MADAGASCAR**

Soutenue le 19 avril 2013 devant le jury composé de :

<b>Jean RASOARAHONA</b>	Professeur ESSA, Université d'Antananarivo	Président
<b>Christian MOREL</b>	Docteur / HDR INRA, Bordeaux	Rapporteur
<b>Jean Chrysostôme RANDRIAMBOAVONJY</b>	Professeur ESSA, Université d'Antananarivo	Rapporteur
<b>Tantely RAZAFIMBELO</b>	Professeur ESSA, Université d'Antananarivo	Examineur
<b>Thierry BECQUER</b>	Docteur / HDR IRD, Madagascar	Examineur
<b>Lilia RABEHARISOA</b>	Professeur ESSA, Université d'Antananarivo	Directeur de thèse
<b>Emmanuel FROSSARD</b>	Professeur ETH, Zürich	Directeur de thèse



## Remerciements

De nombreuses personnes et institutions ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse et je tiens à leur faire part de mes profondes gratitude.

J'adresse mes profondes gratitude à Professeur Lilia Rabeharisoa, directeur de thèse et Professeur Emmanuel Frossard, co-directeur de thèse, sans qui ce travail n'aurait pas pu aboutir. Merci de m'avoir accueilli, de m'avoir fait confiance pour mener cette thèse ainsi que pour tous les conseils techniques et encadrements scientifiques au laboratoire et sur le terrain.

J'adresse mes vifs remerciements aux membres du jury d'examiner cette thèse malgré leurs multiples occupations. Je tiens donc à exprimer mes vives reconnaissances à Monsieur Jean Rasoarahona, à Monsieur Christian Morel, à Monsieur Jean Chrysostôme Randriamboavonjy, à Madame Tantely Razafimbelo, et à Monsieur Thierry Becquer.

J'adresse mes respectueuses reconnaissances aux membres de mon comité de thèse et à mes deux superviseurs en Suisse, Madame Astrid Oberson et Madame Else Bünemann (ETH Zürich), qui m'ont aidé et soutenu durant les trois années de thèse.

Je tiens à témoigner mes sincères reconnaissances à toutes les équipes et les collègues du Laboratoire des Radioisotopes à Antananarivo (Madagascar), du Groupe de Nutrition des Plantes à Eschikon (Suisse) et de l'UMR INRA-ENITA Transfert sol-plante et cycle des éléments minéraux dans les écosystèmes cultivés Bordeaux (France). Merci à tous les chercheurs, les techniciens et le personnel administratif de ces laboratoires qui m'ont ouvert leur porte et apporté leurs compétences lorsque je suis venue leur demander leurs aides et leurs recommandations. Un grand merci à Thilo Dürr-Auster, Simone Nanzer, Michel Ouyabe, Lova Rakotomalala, Fano Randriamanantsoa et Verena Pfahler pour leurs aides et assistances durant la finalisation de cette thèse.

Mes profondes reconnaissances à ceux qui ont contribué à la préparation et réalisation des travaux de terrain et au laboratoire en particulier: à toute l'équipe du Projet MoETH, à Marie-Paule Razafimanantsoa, Odette Rasoarimalala, Agnès Nivotiana, Oliver Zemek, et Christiane Gujan.

Mes sincères remerciements s'adressent aux institutions qui ont contribué financièrement à la réalisation de cette thèse: le Fonds Nationale Suisse de la recherche scientifique et la Direction du développement et de la coopération Suisse (projet n.IZ70Z0\_131310/1), le Gouvernement Suisse (Bourses pour les étudiants étrangers) et l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA, MAG/00702).

Mes pensées vont aussi à mes parents, à ma famille et à tous mes amis.

Je dédie cette thèse à notre maman, Madame Eugénie Rasoavolonomenjanahary, en témoignage de reconnaissance de tous les sacrifices qu'elle a fait pour nous.

## Résumé

L'agriculture de conservation est une approche en cours d'adoption sur les Ferralsols des «tanety» (collines) du Moyen Ouest de Madagascar. Ce sont des sols acides avec un faible teneur en matière organique et en phosphore (P) phytodisponible. L'incorporation d'une plante légumineuse comme le *Stylosanthes guianensis* (stylo, CIAT 184) dans la rotation de cultures et les apports des engrais organiques (fumier et résidus de cultures) permettent de restaurer la fertilité et la matière organique dans ces sols. D'une part, cette intervention suppose une augmentation de la minéralisation du phosphore organique (Po) pour alimenter en ions phosphates (Pi) dans la solution du sol qui est la fraction de P que la plante peut prélever. La quantification de la minéralisation du Po est vraiment difficile sur ce sol à faible disponibilité en P et à fort pouvoir fixateur vis-à-vis du Pi car aussitôt que le Pi est libéré dans la solution de sol par la voie de la minéralisation, il peut être adsorbé sur les particules de la phase solide du sol. D'autre part, une bonne connaissance de l'efficacité des apports organiques est nécessaire pour une bonne gestion des ressources en P disponibles dans le Moyen Ouest. Nous avons utilisé la technique de dilution isotopique pour répondre à ses problématiques.

Dans le premier chapitre, l'adaptation de la méthode colorimétrique appelée «méthode de concentration à l'hexanol» permet de mesurer une concentration en ions phosphates très faible dans la solution de sol de l'ordre du nanomolaire ( $1 \mu\text{g P L}^{-1}$ ). Cette méthode a permis de soulever la difficulté liée à la détermination du Pi très faible dans ces sols tropicaux. Nous avons pu confirmer aussi que le traceur ( $^{33}\text{P}$ ) et l'élément tracé ( $^{31}\text{P}$ ) ont le même comportement lors des expériences de cinétique d'échange isotopique. C'est l'une des hypothèses de base de la méthode de dilution isotopique qui était remise en doute sur ces sols très fixateur en Pi.

Dans le deuxième chapitre, la minéralisation basale brute du Po est quantifiée pour la première fois sur ce type de sol grâce à la combinaison de la méthode de dilution isotopique et la méthode de concentration à l'hexanol. L'effet de l'apport de résidus de stylo se reflète directement sur une augmentation de la minéralisation basale brute du Po dans l'expérience d'incubation. Le taux de la minéralisation basale brute du Po ne représente respectivement que 4% et 9% du Pi isotopiquement échangeable correspondant pour un sol non amendé et

un sol amendé avec des résidus de stylo. Ce flux est faible mais il nous montre le potentiel que peut avoir un apport répété d'engrais organique sur la minéralisation du Po.

Dans le troisième chapitre, l'utilisation de la méthode de marquage indirecte seule permet d'avoir un résultat fiable sur l'essai en pot en condition contrôlée. Une grande proportion (60%) du P prélevé par la partie aérienne de l'*Oriza sativa* (riz pluvial, NERICA 4) provient des engrais organiques. Ce qui suggère une bonne phytodisponibilité en P de ces sources. Par contre, le coefficient d'utilisation des engrais organiques est relativement faible de 5 à 8% du P ajouté à cause de la faible production en biomasse du riz pluvial. Ceci est une indication de l'importance de l'effet résiduel de ces apports sur la culture suivante. L'utilisation de la méthode isotopique est indispensable comparée à la méthode de différence car elle permet d'observer le phénomène de l'interaction P ajouté («added P interaction») et de l'immobilisation du P comme dans le cas du fumier.

Cette étude est une mise au point méthodologique en milieu contrôlé qui est un prérequis pour étudier ce qui se passe dans le dispositif expérimental à Ivory et sur les parcelles paysannes.

**Mots clés:** Ferralsol, méthode isotopique, minéralisation brute, phosphore organique, engrais organique, conservation agriculture.

## **Abstract**

Conservation agriculture is an approach being adopted on the upland called "tanety" of the Midwest region of Madagascar. These Ferralsols are acidic with low organic matter content and phosphorus (P) availability. The incorporation of a legume *Stylosanthes guianensis* (CIAT 184) (stylo thereafter) in crop rotation and the addition of organic fertilizers as manure or crop residues can restore fertility and increase organic matter in these soils. Firstly, this biological intervention can induced an increase of basal organic phosphorus (Po) mineralization to supply phosphate ions (Pi) in the soil solution, which is the fraction of plant P available. Assessment of Po mineralization is difficult in this soil with low availability and high sorption capacity for Pi as the Pi released into the soil solution can be directly adsorbed on the soil particles. Secondly, a better knowledge of the recovery of the organic fertilizer is

needed for an integrate management of the limited P resources available in the Midwest region. We used isotope dilution technique to address these issues.

In chapter 1, we adapted a colorimetric method called "hexanol concentration method" which is used to assess very low water extractable Pi in the soil solution in a range of nanomolar ( $1 \mu\text{g P L}^{-1}$ ). This method can overcome the problem related on the assessment of water very low extractable in tropical soils. We confirmed that the tracer ( $^{33}\text{P}$ ) and the tracee ( $^{31}\text{P}$ ) have the same behaviour during isotopic exchange kinetic experiments. This basic assumption of isotope dilution method was needed to be checked in a soil with very low P available and high sorption capacity for Pi.

In chapter 2, we addressed the quantification of the gross Po mineralization for the first time in this type of soil. It was possible to measure this gross flux with the combination of isotope dilution method and the hexanol concentration method. The stylo residues amendment had a significant effect on gross Po mineralization during the incubation experience. The rate of gross Po mineralization is low and represents only 4% and 9% of the corresponding isotopically exchangeable Pi in the unamended and stylo-amended soils, respectively. It shows the potential that can have a repeated organic fertilizer addition on the mineralization of Po in this soil.

In chapter 3, we showed that the use of indirect labelling technique alone provided reliable result for pot experiment under controlled condition. A large proportion (60%) of P taken up by the shoot of *Oriza sativa* (upland rice, NERICA 4) derived from organic fertilizers. It suggests a good availability of P added with each fertilizer. However, the recovery of organic fertilizers is relatively low 5 to 8% of P added because of the low biomass production of the upland rice. The use of the isotopic method is really important compared to the difference method because it allows us to observe the phenomenon of "P added interaction" and immobilization of P like in the case of manure.

This methodological development under controlled condition is a prerequisite before testing these processes in a field and on farm studies.

**Keywords:** Ferralsol, isotopic method, gross mineralization, organic phosphorus, organic fertilizer, conservation agriculture.

## Table des matières

<b>Liste des abréviations .....</b>	<b>ixx</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>xiii</b>
<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>xv</b>
<b>Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
<b>1. Etat de connaissance sur le cycle du P sur les sols tropicaux à très fort pouvoir fixateur et très faible phytodisponibilité en <math>P_i</math>.....</b>	<b>2</b>
1.1 Phosphore un élément essentiel pour la vie et à la fois limité .....	2
1.2 Phosphore dans les Ferralsols: composition et phytodisponibilité.....	2
1.3 Utilisation de la technique de dilution isotopique dans le système sol-solution.....	7
1.4 Utilisation de la méthode de dilution isotopique dans le système sol-plante.....	8
<b>2. Contexte et problématiques.....</b>	<b>9</b>
2.1 Insécurité alimentaire et dégradation du sol.....	9
2.2 Cas du Moyen Ouest des Hautes terres .....	10
2.3 Problématiques .....	14
2.4 Hypothèses.....	14
2.5 Objectif de ce travail .....	16
<b>Chapitre 1. Vérification et validation de l'utilisation de la méthode de cinétique d'échange isotopique dans les sols à très faible teneur en phosphate phytodisponible et à fort pouvoir fixateur vis-à-vis des ions phosphates.....</b>	<b>177</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>20</b>
<b>2. Matériels et Méthodes.....</b>	<b>23</b>
2.1. Sols.....	23
2.2. Préparation et amendement de la goethite.....	24
2.3. Statut en P du sol.....	25
2.4. Mesure de $P_i$ dans les extraits à l'eau du sol ( $P_{i_{eau}}$ ).....	27
2.5. Les expériences de cinétique d'échange isotopique (CEI) .....	27
2.6. Calculs et Statistiques.....	28
<b>3. Résultats.....</b>	<b>31</b>

3.1. Mesure des concentrations d'ions orthophosphates dans les extraits aqueux.....	31
3.2. Expérience de cinétique d'échange isotopique avec deux radioisotopes .....	33
3.3. Évaluation du Pi échangeable dans un sol à très fort pouvoir fixateur pour le Pi avec un apport du fumier ou d'un engrais P soluble dans l'eau .....	39
<b>4. Discussion.....</b>	<b>41</b>
4.1. La validation de l'utilisation de l'expérience de CEI dans la deuxième série de sols. ....	41
4.2. La mesure des concentrations d'orthophosphates dans les extraits aqueux .....	42
4.3. Expérience de cinétique d'échange isotopique avec deux radioisotopes .....	43
4.4 Implication des résultats obtenus sur la goethite pour le sol .....	44
<b>5. Conclusions.....</b>	<b>46</b>
<b>6. Remerciements .....</b>	<b>46</b>
<b>Chapitre 2. Détermination des flux bruts de la minéralisation du phosphore organique dans un sol tropical à fort pouvoir fixateur utilisant la méthode de dilution isotopique ...</b>	<b>47</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>49</b>
<b>2. Matériels et méthodes .....</b>	<b>51</b>
2.1 Conception de l'étude .....	51
2.2 Analyse des sols et des résidus végétaux.....	53
2.3 Mesure de la respiration .....	54
2.4 Expérience de cinétique d'échange isotopique à court terme .....	54
2.5 Expérience d'incubation .....	56
2.6 Calculs.....	56
2.7 Statistiques .....	58
<b>3. Résultats.....</b>	<b>58</b>
3.1 La respiration du sol .....	58
3.2 Paramètres de la CEI.....	63
3.3 Expérience d'incubation .....	63
3.4 Minéralisation brute du Po.....	65
<b>4. Discussion .....</b>	<b>67</b>
4.1 Concentrations de Pi et des activités spécifiques .....	67
4.2 Minéralisation brute du Po.....	69
<b>5. Conclusions.....</b>	<b>72</b>

<b>Chapitre 3. Evaluation par la technique isotopique de la quantité de phosphore prélevé par le riz pluvial avec des apports organiques sur un Ferralsol .....</b>	<b>73</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>76</b>
<b>2. Matériels et méthodes .....</b>	<b>78</b>
2.1 Conception expérimentale de l'essai en serre .....	78
2.2 Pré-incubation du sol .....	79
2.3 Marquages des sols .....	79
2.4 Production des résidus de Stylosanthes marqués et non marqués .....	80
2.5 Essai en pot et expérience d'incubation en utilisant DLT et ILT .....	81
2.6 Analyses des sols et des plantes.....	82
2.7 Calcul de la proportion du P prélevé par le riz (partie aérienne) provenant de l'engrais et la proportion de P prélevé par la résine provenant de l'engrais .....	83
2.8 Calcul de P provenant du sol et des graines.....	84
2.9 Calcul de la valeur L et la proportion de P prélevé comparé à la valeur L .....	85
2.10 Statistiques .....	85
<b>3. Résultats et discussion .....</b>	<b>86</b>
3.1 Expérience en pot.....	86
3.2 Expérience d'incubation .....	92
3.3 Comparaison entre la technique isotopique et la méthode des différences.....	96
<b>4. Conclusion .....</b>	<b>98</b>
<b>Discussion générale, conclusion et perspectives .....</b>	<b>99</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>109</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>I</b>

## Liste des abréviations

AC	Agriculture de conservation
ACUP <sub>plante</sub>	Coefficient d'utilisation apparent du P par la plante de riz
ADN	Acide désoxyribonucléique
Al	Aluminium
Al <sub>DCB</sub>	Aluminium dans l'extrait de Dithionite-Citrate-Bicarbonate
Al <sub>ox</sub>	Aluminium dans l'extrait d'oxalate d'ammonium
ANOVA	Analyse de variance
APdff <sub>plante</sub>	Quantité apparente du P prélevé par la plante de riz provenant de l'engrais P
ARN	Acide ribonucléique
AS	Activité spécifique
ATP	Adénosine-5'-triphosphate
BET	Brunauer, Emmett et Teller
C	Carbone
Ca	Calcium
CBPM	Complexe bleu du phosphomolybdate
CEI	Cinétique d'échange isotopique
CIAT	Centre International d'Agriculture Tropicale
CUP	Coefficient d'utilisation du phosphore
CUP <sub>plante</sub>	Coefficient d'utilisation des engrais P dans la biomasse du riz
CUP <sub>résine</sub>	Coefficient d'utilisation des engrais P dans le compartiment du P <sub>résine</sub>
DGT	Diffuse Gradient in Thin-film
DLT	Technique de marquage direct
E <sub>1jour</sub>	Quantité d'ion phosphate isotopiquement échangeable en un jour

$E_{1\text{minute}}$	Quantité d'ion phosphate isotopiquement échangeable en une minute
$E_t$	Quantité d'ion phosphate isotopiquement échangeable au temps t
ESSA	Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques
Fe	Fer
$Fe_{\text{DCB}}$	Fer dans l'extrait du Dithionite-Citrate-Bicarbonate
$Fe_{\text{ox}}$	Fer dans l'extrait d'oxalate d'ammonium
ILT	Technique de marquage indirect
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
IRD	Institut de Recherche pour le Développement
LD	Limite de détection
LRI	Laboratoire des Radioisotopes
LQ	Limite de quantification
m	Coefficient tenant compte des réactions physico-chimiques immédiates
meanB	Moyenne de 10 blancs
MS	Matière sèche
n	Coefficient tenant compte des réactions physico-chimiques lentes
N	Azote
ODEMO	Opération de Développement du Moyen Ouest
ONG	Organisation non gouvernementale
P	Phosphore
$P_{\text{ajouté}}$	Phosphore ajouté
$P_{\text{prélevé}}$	Phosphore prélevé
$P_{\text{résine}}$	Phosphore extrait par une résine ou une membrane échangeuse d'anion
$^{32}\text{P}$	Radioisotope de phosphore

$^{33}\text{P}$	Radioisotope de phosphore
Pdff	P prélevé provenant de l'engrais
Pdff <sub>plante</sub>	P prélevé par la partie aérienne du riz provenant de l'engrais
Pdff <sub>résine</sub>	P prélevé par le compartiment P <sub>résine</sub> provenant de l'engrais
Pdfg	P prélevé provenant de la réserve en P de la graine
Pdfs <sub>plante</sub>	P prélevé par la partie aérienne du riz provenant du sol
Pdfs <sub>résine</sub>	P prélevé par le compartiment P <sub>résine</sub> provenant du sol
Pi	Ions phosphates
$^{32}\text{P}_i$	Radioisotope de phosphore sous forme d'ion phosphate
$^{33}\text{P}_i$	Radioisotope de phosphore sous forme d'ion phosphate
Pi <sub>bic</sub>	Concentration d'ion phosphate extrait dans une solution de bicarbonate
Pi <sub>eau</sub>	Concentration d'ion phosphate extrait dans l'eau
Pi <sub>max</sub>	Quantité maximum d'ion phosphate qui peut être adsorbé par le sol
Pi <sub>0,2</sub>	Quantité d'ion phosphate adsorbé par le sol pour atteindre la concentration d'équilibre 0,2 mg P L <sup>-1</sup> dans la solution
Po	Phosphore organique
R	Quantité de radioactivité totale introduite
r	Quantité de radioactivité restante en solution
r <sub>∞</sub>	Quantité de radioactivité restante dans la solution une fois équilibre isotopique est atteinte
SCV	Système sous-couverture végétal
SD	Standard deviation (écart-type)
SNF	Swiss National Foundation
t	Temps
T	Temps de demi-vie

TAFa	Tany sy Fampanandrosoana
URP SCRID	Unité de Recherche en Partenariat sur les Systèmes de Culture et Rizicultures Durables
V	Rapport entre volume solution et masse de sol
WHC	Water holding capacity (Capacité de rétention en eau)
WP	Work Package

## Liste des figures

### Introduction générale

- Figure 1: Carte des zones agroécologiques de Madagascar. ....18
- Figure 2: Schéma conceptuel des travaux à réaliser dans le projet MoETH.....20
- Figure 3: Représentation simplifiée de la dynamique du P dans un système basé sur des apports organiques et des hypothèses de cette étude. ....21

### Chapitre 1

- Figure 1: Ratio de  $^{32}\text{Pi}$  (cercle fermé) et  $^{33}\text{Pi}$  (cercle ouvert) restante en solution (**r**) à la radioactivité totale introduite (**R**) en (a) une suspension eau/phosphate/goethite et (b) une suspension  $\text{NaNO}_3$ /phosphate/goethite.....39
- Figure 2: Ratio de  $^{32}\text{Pi}$  (cercle fermé) et  $^{33}\text{Pi}$  (cercle ouvert) restant en solution (**r**) à la radioactivité totale introduite (**R**) dans une solution de suspensions sols d'Ivory, de Betafo et de Lazaina.....40
- Figure 3: Dispersion de particules de la goethite dans les systèmes goethite/phosphate/eau affectés par l'augmentation des ajouts de Pi (allant de 0 à  $3100 \text{ mg P kg}^{-1}$ ).....46

### Chapitre 2

- Figure 1: Le taux moyen de respiration pendant la pré-incubation (avant le jour 0) et pendant l'expérience d'incubation (à partir du jour 0) du sol amendé (cercle) et du sol non amendé (triangle).....64
- Figure 2: L'évolution de la concentration de Pi au cours de l'expérience incubation avec la méthode à l'eau (a) et avec la méthode au bicarbonate (b).....69
- Figure 3: Evolution de l'activité spécifique lors de l'expérience d'incubation avec la méthode à l'eau (a) et avec la méthode au bicarbonate (b).....71

### Chapitre 3

- Figure 1: Calendrier des interventions et marquages de l'essai en serre. DLT = technique de marquage direct, ILT= technique marquage indirect.....83
- Figure 2: La production de matière sèche et le prélèvement de P par la partie aérienne du riz pluvial pour chaque traitement à l'aide de DLT et ILT après 40 jours après le transfert des plantes.....92
- Figure 3: Répartition du P prélevé par la partie aérienne du riz après 40 jours de croissance des plantes.....96
- Figure 4: Evolution de la quantité de  $\text{P}_{\text{résine}}$  aux trois points d'échantillonnage (3, 8 et 36 jour) au cours de l'étude d'incubation.....100

**Discussion générale, conclusion et perspectives**

Figure 1: Modèle conceptuel d'un système sol-plante basé sur un essai en pot avec des apports organiques.....106

## Liste des tableaux

### Chapitre 1

- Tableau 1: Quelques propriétés physico-chimiques de la couche arable (0-20cm) de trois sols malagasy (Betafo, Ivory et Lazaina). .....29
- Tableau 2: Comparaison des limites de détection et de quantification de Pi mesuré dans cette étude et par différentes méthodes colorimétriques associées à différentes méthodes pour concentrer le Pi. ....38
- Tableau 3: Les paramètres de l'expérience de cinétique d'échange isotopique (**m**, **n** et **r<sub>∞</sub>/R**), le Pi extractibles à l'eau (**Pi<sub>eau</sub>**), le **pH** et la quantité de phosphate isotopiquement échangeable en une minute (**E<sub>1minute</sub>**) et un jour (**E<sub>1jour</sub>**) calculés en présence de <sup>32</sup>Pi et <sup>33</sup>Pi dans les suspensions eau/phosphate/goethite et de NaNO<sub>3</sub> 0,05 M/phosphate/goethite suspensions.....42
- Tableau 4: Les paramètres de l'expérience de CEI (**m**, **n** et **r<sub>∞</sub>/R**), le **Pi<sub>eau</sub>**, et les valeurs de E en une minute et un jour (**E<sub>1minute</sub>**, **E<sub>1jour</sub>**) calculés en présence de <sup>32</sup>Pi et <sup>33</sup>Pi pour la 1<sup>ère</sup> série de sols.....43
- Tableau 5: Les paramètres de l'expérience de CEI (**m**, **n** et **r<sub>∞</sub>/R**), le **Pi<sub>eau</sub>** et les valeurs de E en une minute et un jour (**E<sub>1minute</sub>**, **E<sub>1jour</sub>**) calculées pour la 2<sup>ème</sup> série des sols.....44

### Chapitre 2

- Tableau 1: Quelques propriétés des résidus de *stylosanthes guianensis* de 2 ans collecté à Ivory (Moyenne ± écart-type, n=4 répétition analytique). .....58
- Tableau 2: Caractéristiques de la couche arable (0-10 cm) du Ferralsol d'Ivory avant le début de l'expérience (Moyenne ± écart -type, n = 4). .....60
- Tableau 3: Minéralisation brute cumulée du C au cours de l'expérience d'incubation (14 jours) et rapport C/P de la minéralisation brute pour les sols amendés et non amendés d'Ivory. ....65
- Tableau 4: Valeur moyenne des paramètres de CEI à court terme déterminée sur le sol non amendé et amendé en utilisant la méthode à l'eau et au bicarbonate.....66
- Tableau 5: Minéralisation brute du Po du Ferralsol d'Ivory ayant reçu un amendement en résidus et non amendé en utilisant la technique de dilution isotopique avec la méthode à l'eau ou la méthode au bicarbonate.....67

### Chapitre 3

- Tableau 1: Caractéristiques des résidus de stylo et du fumier utilisés dans cette étude. ....86
- Tableau 2: La quantité totale de P prélevé par le riz, la concentration en P du riz et la

proportion de P prélevé par la partie aérienne du riz provenant de l'engrais et du sol récolte à 40 jours après le transfert des plantules de riz dans l'expérience en pot en utilisant la technique isotopique. La quantité de P potentiellement phytodisponible (valeur L) est également déterminée en utilisant ILT.....93

Tableau 3: La minéralisation du C et la proportion de C ajoutée et consommée au cours de l'expérience d'incubation (38 jours). .....98

Tableau 4: Evolution de la quantité de  $P_{résine}$ , la quantité et la proportion de P dans le pool de  $P_{résine}$  extractible résine provenant de l'engrais aux trois points d'échantillonnage ( $3^{iem}$ ,  $8^{iem}$  et  $36^{iem}$ ) au cours de l'expérience d'incubation. ....101

Tableau 5: Comparaison des résultats du Pdfd dans la plante et dans le pool  $P_{résine}$  au  $3^{iem}$  jour de l'incubation en utilisant la méthode isotopique et la méthode de différence,  $n = 4$  pour le fumier et  $n = 8$  pour le stylo et le minéral P. ....103

## **Introduction générale**

## **1. Etat de connaissance sur le cycle du P sur les sols tropicaux à très fort pouvoir fixateur et très faible disponibilité en Pi**

### **1.1 Phosphore un élément essentiel pour la vie et à la fois limité**

Le phosphore (P) est un élément essentiel pour tous les organismes vivants. Il occupe un rôle important dans les fonctions métaboliques de la plante. Il entre dans la composition de l'ADN (acide désoxyribonucléique) où est inscrit le code génétique, ainsi que dans celle de l'ARN (acide ribonucléique) qui permet la transcription de l'information génétique en protéines. Il est aussi important dans l'ATP (adénosine-5'-triphosphate) pour les transferts d'énergie et dans les phospholipides constituant des membranes cellulaires (Marschner, 1995). Le manque de P entraîne un développement anormal de la plante ou de l'organisme concerné et peut causer même la mort de l'organisme carencé en P dans les cas extrêmes.

Le phosphore existe dans la nature à l'état combiné dans un grand nombre de minéraux: phosphates et fluorophosphates d'aluminium, de calcium, de fer ou de manganèse (Walker and Syers, 1976). Les principaux phosphates naturels utilisés en agriculture sont des phosphates constitués d'apatite accompagnée de carbonate (francolite) (Hammond et al., 1986; Sikora and Giordano, 1995). L'apatite des phosphates naturels est utilisée pour la fabrication des engrais P solubles dans l'eau qui sont la source d'engrais P minéraux utilisés dans les écosystèmes cultivés. Ce sont des ressources limitées et par conséquent, la gestion du P dans les systèmes de culture aura un impact important dans l'avenir sur la sécurité alimentaire (Oberson et al., 2011).

### **1.2 Phosphore dans les Ferralsols: composition et phytodisponibilité**

#### *1.2.1 Composition minéralogique et phosphore organique*

Les Ferralsols sont des sols tropicaux vieux et fortement altérés (FAO/ISRIC/ISSS, 1998). Les Ferralsols recouvrent 35,4% de l'ensemble du territoire de Madagascar (Razafimahatratra, 2011). Les constituants minéraux des Ferralsols sont principalement représentés par la phase cristallisée et la phase amorphe. La phase cristallisée est constituée

par les argiles (kaolinite), les oxydes de fer (Fe) bien cristallisés (goethite  $\text{FeOOH}$ , hématite  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), les oxydes d'aluminium  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , et les quartz ( $\text{SiO}_2$ ) tandis que la phase amorphe est composée essentiellement des oxyhydroxydes de Fe et d'aluminium (Al) et des gels colloïdaux (Dabin, 1971; Sanchez et al., 1997). Les oxydes et hydroxydes de Fe et d'Al prédominent cette fraction en matière de composante minérale tandis que la fraction dominante pour l'argile est la kaolinite (Giller and Wilson, 1991). Ces oxydes de fer sont parmi les plus réactifs dans le sol (Loeppert and Inskeep, 1996) et en combinaison avec le pH typiquement acide, ils deviennent des sites d'adsorption très forte pour le P (Parfitt, 1980).

Les matières organiques proviennent des résidus végétaux notamment les feuilles, les rameaux, les branches et les troncs, les racines et les exsudats racinaires. Une fraction importante de ces résidus est minéralisée suite à une activité biologique intense et libère les éléments solubles ou gazeux tandis qu'une partie est transformée par des réactions de biodégradation ou de synthèse en des produits humiques ou de synthèse appelée humus. L'humus interagit étroitement avec les fractions minérales (sesquioxydes) et l'argile des Ferralsols. Il est également peu sensible aux actions microbiennes ce qui conduit par conséquent à une lente décomposition. Généralement les Ferralsols contiennent une quantité assez faible en matière organique. Le terme «phosphore organique» (Po) englobe en général les molécules de P incorporées dans un squelette carboné comme les phosphates esters (C-O-P) et le P dans la plante ou le P inclus ou incorporé dans une membrane biologique. La majorité de Po dans les organismes en croissance est sous forme d'acide nucléique, de monoester tel que l'inositol hexaphosphate. Le Po peut être biologiquement important dans les sols infertiles riches en oxydes métalliques dans les régions tropicales (Turner et al., 2006). Andriamahady (1980) et Turner (2006) ont déterminé la proportion du Po autour de 31 à 36% et 14 à 28% du P total sur des Ferralsols de Madagascar.

### *1.2.2 Phytodisponibilité du P*

La phytodisponibilité du P est déterminée par la contribution d'un compartiment du P du sol à l'alimentation de la plante tout en tenant compte des interactions entre les composantes organiques et minérales du P du sol, des teneurs en solution et de l'activité des racines et des microorganismes (Vanden, 1999). La phytodisponibilité du phosphore dépend donc

potentiellement d'un grand nombre de réactions physico-chimiques et biologiques capables de libérer des ions phosphates dans la solution à partir des compartiments minéral, organique et microbien du sol. Comme le P est présent sous différentes formes dans le sol. A un moment donné, seule une petite fraction de P total du sol est sous une forme directement accessible pour la plante ou les microbes. Il est généralement admis que cette forme accessible est sous la forme d'ions orthophosphate ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) dans la solution du sol. La libération d'espèces ioniques P à partir de constituants du sol à la solution du sol est potentiellement régie par des mécanismes physico-chimiques comme la dissolution-précipitation, l'adsorption-désorption et la diffusion et par des mécanismes biologiques comme la minéralisation-immobilisation, l'activité de la racine et de la rhizosphère (Frossard et al., 2000; Hinsinger, 2001; Morel, 2002).

#### 1.2.2.1 Processus physico-chimiques

Les principaux processus contrôlant la concentration du P dans la solution du sol sont l'adsorption et la désorption au niveau des constituants du sol. L'adsorption est un phénomène physique d'attraction ou de fixation des ions phosphates de la solution du sol au niveau de la phase solide du sol. L'adsorption a eu lieu à la surface des constituants du sol (Achat et al., 2009a). La désorption est le phénomène inverse de l'adsorption qui désigne la libération des ions phosphate adsorbés ou fixés de la phase solide vers la solution du sol. La désorption du P fixé au niveau des constituants solides du sol apparaît surtout au cours d'une réaction d'échange de ligand. Ainsi, une diminution de concentration de P dans la solution du sol ou une augmentation de la concentration des anions compétiteurs conduit à la désorption (Sharpley et al., 1981; Barrow, 1983; Hinsinger, 2001).

La précipitation et la dissolution peuvent aussi avoir leur importance comme les ions phosphates peuvent réagir avec les cations métalliques (Ca, Fe, Al) pour former un composé précipité de minéraux phosphatés (Lindsay et al., 1959, 1989; Hsu, 1976). Le type de minéraux formé dépend du pH du sol. Par exemple, pour un sol acide tel que les Ferralsols, les ions phosphates se précipitent en phosphate de Fe et d'Al comme les strengites ( $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), variscites ( $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) et vivianites ( $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) mais par contre dans les sols neutres ou alcalins, les ions phosphates se précipitent en phosphate de Ca comme les

hydroxyapatites ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), phosphate dicalciques ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ou octacalciques ( $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ). La solubilité du phosphate de Fe, d'Al augmente avec le pH tandis que la solubilité du phosphate de Ca diminue avec le pH. En général, l'équilibre précipitation-dissolution contrôlant la solubilité des minéraux phosphatés dépend du pH et de la concentration du  $\text{P}_i$  et des métaux en question (Hammond et al., 1986).

#### 1.2.2.2 L'activité de la racine et de la rhizosphère

Les principaux mécanismes physico-chimiques et biochimiques conditionnant la phytodisponibilité du P et la mobilité du P au niveau de la rhizosphère sont la diffusion, le flux de masse, l'adsorption-désorption entre la phase solide et la solution du sol, les sécrétions racinaires ou celles induites par les microorganismes notamment les composés tels que les protons, les hydroxyles et/ou les acides organiques (complexation/chélation), et les équilibres de précipitation-dissolution de minéraux phosphatés ou d'adsorption-désorption de P. La production d'enzymes capables d'hydrolyser les formes organiques de P participe aussi à la phytodisponibilité de P dans la rhizosphère (Hinsinger et al., 2007).

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques qui s'établissent entre les racines de plantes et certains champignons du sol. La mycorhization peut jouer un grand rôle dans la croissance des plantes en améliorant leurs nutriments azotés et phosphatés dans le sol (Plassard, 1996, Jansa et al., 2011).

#### 1.2.2.3 La minéralisation et l'immobilisation

Les mécanismes biologiques déterminant la disponibilité en P du sol peuvent être regroupés par les processus suivant la minéralisation du P organique du sol et l'immobilisation biologique.

Le processus de minéralisation du  $\text{P}_o$  du sol peut être regroupé:

- (1) La minéralisation basale du  $\text{P}_o$  qui est la minéralisation de la matière organique du sol en absence du «flush effect» c'est à dire à un taux de respiration constant. Elle présente

le potentiel de base d'un sol à libérer du Pi à partir du Po dans la solution du sol (Oehl et al., 2001);

- (2) Le «flush effect» qui est causé par des séquences de séchage-humidification du sol ou de congélation-décongélation du sol pouvant entraîner une libération de Pi dans la solution du sol provenant du Po (Butterly et al., 2009);
- (3) La ré-minéralisation qui est due à la libération du P microbien du sol après la phase de décomposition des matières organiques principales (résidus de récolte, par exemple) ou au cours du recyclage en raison de la mort et de la décomposition microbienne, et elle représente la minéralisation de Po récemment synthétisé (Achat et al. 2009a);
- (4) La minéralisation du Po provenant des résidus de cultures.

Ces 4 processus de la minéralisation du Po peuvent-être à la fois:

- (i) De nature biologique quand la libération de Pi est consécutive à l'oxydation de C des matériaux organiques par les organismes du sol. Cette minéralisation est motivée par la recherche de l'énergie des microorganismes du sol (McGill et Cole, 1981);
- (ii) De nature biochimique qui est définie comme la libération de Pi à partir de composés organiques par hydrolyse enzymatique extracellulaire (McGill et Cole, 1981). Cette minéralisation est motivée par la recherche de nutriment dans les formes peu solubles du Po des microorganismes du sol (les champignons, les bactéries) et de la plante à travers son système racinaire en exsudant des phosphatases. Elle est généralement plus prononcée dans une condition de déficience en P (Gilbert et al., 1999).

Le processus d'immobilisation du Pi est l'effet inverse, comme les microorganismes du sol vont assimiler une partie des Pi de la solution du sol pour se multiplier et croître dans la biomasse microbienne du sol.

La minéralisation du Po peut jouer un rôle important dans un sol tropical à faible disponibilité en Pi et avec une grande capacité de rétention du Pi sur les particules du sol mais avec une proportion assez importante en Po (Oberson et al., 2006 and Turner et al., 2006). La mesure de cette minéralisation du Po par des méthodes chimiques et isotopiques est difficile dans ce type de sol car les Pi sont rapidement adsorbés sur les surfaces du sol après leur libération à la solution du sol par le Po (Frossard et Sinaj, 1997).

### 1.3 Utilisation de la technique de dilution isotopique dans le système sol-solution

La méthode isotopique est une méthode non destructive et robuste pour la détermination du Pi libéré dans la solution du sol. Comme le système sol-solution est généralement très complexe car (i) le P total du sol est distribué dans plusieurs compartiments, (ii) le P du sol participe à plusieurs réactions dans le sol, certains se passent en une fraction de seconde et d'autres se passent en plusieurs années et (iii) seulement une petite fraction du P total circule dans le système et se trouve dans la solution de sol (Frossard et al., 2011). La technique de traçage isotopique ou la technique de dilution isotopique repose sur le principe de conservation de la masse. En d'autre terme, l'activité spécifique (AS) des compartiments considérés se conserve pendant la durée de l'échange. L'activité spécifique étant le rapport entre l'isotope ajouté ( $^{33}\text{P}$  ou  $^{32}\text{P}$ ) à celle de P stable dans le compartiment considéré ( $^{31}\text{P}$ ). Comme application de cette méthode on peut citer à titre d'exemple:

Le Pi isotopiquement échangeable (valeur E) peut être déduite à partir d'une expérience de cinétique d'échange isotopique en utilisant l'AS de Pi dans la solution du sol marqué au  $^{33}\text{P}$  après un temps d'équilibration (Fardeau et al., 1991; Russell et al., 1957).

Une autre approche novatrice est le couplage de l'adsorption-désorption et la technique dilution isotopique en utilisant l'équation cinétique de Freundlich pour déterminer la quantité brute des ions phosphates diffusibles (Pr) à l'interface solide-solution. Cette méthode a été utilisée sur des sols et des sédiments dans la région tempérée (Morel et al., 2000; Stroia et al., 2007) et sur des sols tropicaux de Madagascar (Rabeharisoa, 2004; Andriamaniraka, 2009; Randriamanantsoa, 2008; Andriamananjara, 2011).

La technique de dilution isotopique dans le système sol-solution permet aussi de quantifier la minéralisation du Po dans la solution du sol (Walbridge et Vitousek, 1987; Oehl et al., 2001, 2004; Bünemann et al., 2007, 2012; Achat et al., 2009a) et aussi utilisée pour quantifier l'acquisition de P du sol par des champignons mycorhiziens (Mosse et al., 1973; Powell, 1975; Jakobsen et al., 1992).

Mais l'utilisation de la technique de dilution isotopique dans le système sol-solution représente un grand défi pour certains sols tropicaux car la concentration en ions phosphate

dans la solution du sol est très faible et que les ions phosphate sont fortement adsorbés (Frossard et al, 2011).

#### **1.4 Utilisation de la méthode de dilution isotopique dans le système sol-plante**

La phytodisponibilité du Pi dans le système sol-plante a été étudiée en utilisant la technique de marquage isotopique (Fardeau et al., 1996). Dans cette approche, les plantes sont cultivées sur des sols marqués par  $^{32}\text{P}$  ou  $^{33}\text{P}$  pour la détermination de la valeur L. Cette valeur représente le Pi potentiellement prélevable pour la plante et peut être déterminée à partir de l'AS du Pi de la partie aérienne de la plante et de l'AS du Pi isotopiquement échangeable du sol (Larsen, 1952).

L'efficacité d'un engrais aussi peut être estimée avec la technique de dilution isotopique dans le système sol-plante. La technique de marquage direct est utilisée si un marquage homogène direct du P dans un engrais est possible. Dans ce cas, la plante va pousser sur un sol non marqué avec de l'engrais marqué avec du  $^{33}\text{P}$ . La comparaison l'AS de l'engrais marqué et l'AS de la plante permettra de déduire la proportion de P provenant de l'engrais dans la plante (Fardeau et al., 1996). Cette technique a été testée pour étudier la contribution de l'engrais vert pour l'acquisition du Pi dans la plante et dans les compartiments du sol sur des sols tropicaux (Bünemann et al., 2004b; Bah et al., 2006). Dans le cas contraire, la technique de marquage indirect est utilisée. Cette fois-ci c'est le sol qui est marqué avec du  $^{33}\text{P}$  ou  $^{32}\text{P}$  et l'engrais non marqué. La technique de marquage indirect est basée sur l'hypothèse que le P phytodisponible dans le sol peut être marqué de façon homogène et que l'AS du P phytodisponible est identique dans le sol non amendé et amendé. La dilution du sol marqué avec l'engrais non marqué peut être déduite en comparant l'AS d'un traitement amendé avec du P non marqué et l'AS d'un traitement qui n'as pas reçu d'engrais (Fardeau et al., 1996). La technique de marquage indirect avec  $^{32}\text{P}$  ou  $^{33}\text{P}$  a été utilisé pour évaluer le P prélevé à partir du phosphate minéral soluble (Morel et Fardeau, 1991), des boues d'épuration (Frossard et al., 1996), du compost (Sinaj et al., 2002), des engrais verts (Bah et al., 2006), du fumier (Oberson et al., 2010) et des cendres des boues d'épuration (Nanzer, 2013). La difficulté liée à l'utilisation de la technique de

marquage indirect sur les engrais P non marqués est de retracer dans la partie aérienne de la plante la contribution du P provenant de la graine non marquée. Cette contribution doit être prise en compte pour une bonne interprétation des résultats (Brookes, 1982; Pypers et al., 2006).

## **2. Contexte et problématiques**

### **2.1 Insécurité alimentaire et dégradation du sol**

La population mondiale sera estimée à 9 milliards vers 2050 (UNPP, 2008). Selon l'estimation de la FAO (FAO, 2009), la production agricole mondiale devra augmenter de 70% jusqu'en 2050 pour subvenir au besoin de cette population grandissante. Dans la région de l'Afrique sub-saharienne, il y a un grand besoin d'augmenter la production agricole qui est généralement faible comparée à la croissance démographique (Collomb, 1999). Cette faible production agricole est liée principalement à la dégradation du sol et la pression démographique (Drechsel et al., 2001). A Madagascar, le problème de malnutrition touche encore 35% de la population avec une grande prévalence dans les milieux ruraux (FAO, 2009) alors que les terres arables ne représentent qu'environ le 20% de la superficie du pays (Rakotondravelo, 2003). Le riz (*Oriza sativa*) occupe une place fondamentale dans la culture de la population. La riziculture malgache souffre par le manque des plaines agricoles cultivables et des bas-fonds pour la riziculture irriguée. Le développement du riz pluvial sur «tanety» ou les collines peut pallier ce problème d'insuffisance des bas-fonds. Cependant, la productivité du riz pluvial est encore faible de l'ordre de 0,8 à 1 t ha<sup>-1</sup> à Madagascar (UPDR/FAO, 2001). Le P et le N sont parmi les facteurs limitant à la fois pour la riziculture irriguée et pluviale (Rabeharisoa, 2004; Rabeharisoa et al., 2012). Les sols des «tanety» sont généralement des Ferralsols, avec une faible teneur en matière organique et en P phytodisponible qui est la quantité d'ions phosphate en solution susceptible d'être prélevé par la plante. Ce sont des sols acides et difficiles à mettre en culture durablement sans correction calcaire et sans intrants chimiques. De plus, une gestion inadaptée des cultures (culture en pente sans dispositif anti-érosif, exploitation minière du sol, absence de rotation

culturelle) sur ces «tanety» entraînent l'érosion des sols, l'invasion des céréales par le *Striga asiatica* et la diminution des rendements.

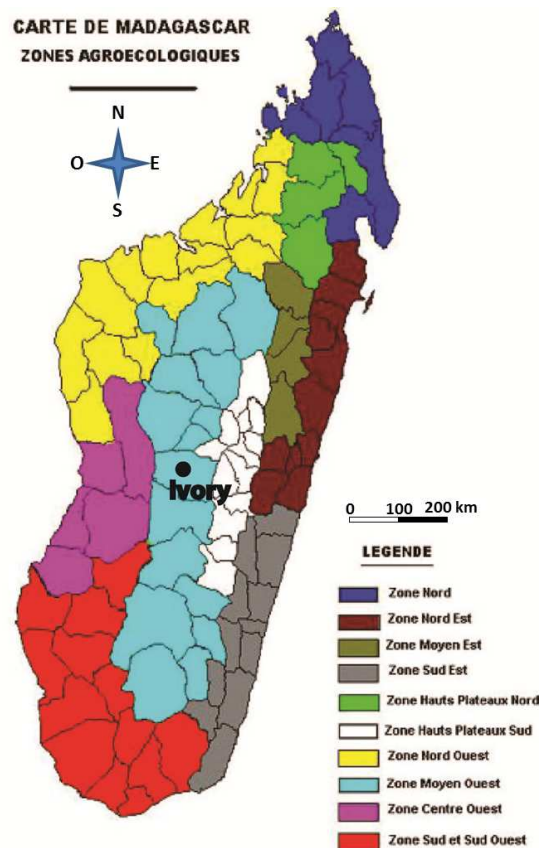
Cette situation emmène à développer des approches intégrées pour améliorer la disponibilité des éléments nutritifs et la fertilité des sols (Frossard et al., 2009; Vanlauwe et al., 2006). Une des approches actuellement en cours de discussion est l'agriculture de conservation (Séguy et al., 2006; FAO, 2008).

## **2.2 Cas du Moyen Ouest des Hautes terres**

### *2.2.1 Développement de la zone*

Le Moyen Ouest est une zone de migration récente qui couvre plus de 100.000 km<sup>2</sup> en superficie (Figure 1). Le développement est marqué par l'ouverture de la route Antsirabe-Mandoto (Route Nationale 34) en 1940. Durant la première république, l'Etat lança l'Opération de Développement du Moyen Ouest (ODEMO) qui consistait à l'utilisation d'engrais chimique (NPK, urée), l'aménagement des courbes de niveau et l'aménagement hydroagricoles. Cette période a vu le développement de la culture de riz sur tanety et la pratique d'associations (manioc, maïs, voandzou) et de rotation de culture (graminée/légumineuse). La zone du Moyen Ouest est marquée par la topographie dominée par de vastes pénéplaines. Les vallées et bas-fonds sont étroits. La pluviosité est élevée mais concentrée dans l'année (novembre à avril, en moyenne 1400 mm). La température moyenne est relativement élevée (21°C). Les systèmes de culture pluviale d'espèces non pérennes dominant mais les cultures sont confrontées à la fertilité du sol qui commence à baisser du fait de l'insuffisance de restauration. Cette zone est l'un des principaux axes de circulation et de circuits commerciaux des troupeaux de bovins du sud vers le moyen ouest (d'Androy vers le Bongolava). Les vols de bœufs sont fréquents surtout dans les zones de Mandoto. Différents types de feux sont produits pendant les intersaisons (feux de pâturages, feu de nettoyage de parcelles et feux de vols de bœufs) avec comme conséquence l'accélération des phénomènes de lavakisation des terroirs à forte pente. La production de fumier ou de poudrette de parc est insuffisante à cause de la difficulté d'approvisionnement en litière et à la malnutrition des animaux surtout pendant la saison sèche. Le fumier est

constitué de litière, de bouse et d'urine de bovins. Une ou deux fois par an le fumier est extrait du parc, entassé et fermenté à l'extérieur puis transporté aux champs pour les cultures de tanety (riz pluvial, maïs, pomme de terre et manioc). L'intensité de l'exploitation des tanety favorise l'érosion (Rakotondravelo and Randrianariveloseheno, 2011).



([www.prv.org/.../madagascar/statistiques\\_agricoles](http://www.prv.org/.../madagascar/statistiques_agricoles))

**Figure 1.** Carte des zones agroécologiques de Madagascar

### 2.2.2 Agriculture de conservation et incorporation des résidus de légumineuse

L'agriculture de conservation (AC) a été proposée pour améliorer durablement la production agricole dans les tropiques. Cette approche est définie comme un système de culture combinant ses trois caractéristiques: (i) une perturbation minimale du sol, (ii) une couverture permanente du sol, (iii) et une rotation des cultures diverses (FAO, 2012). Il est en cours d'adoption par les petits exploitants dans le Moyen Ouest pour lutter contre l'érosion des sols, le *Striga asiatica* sur les céréales et le manque de fourrage pour le bétail.

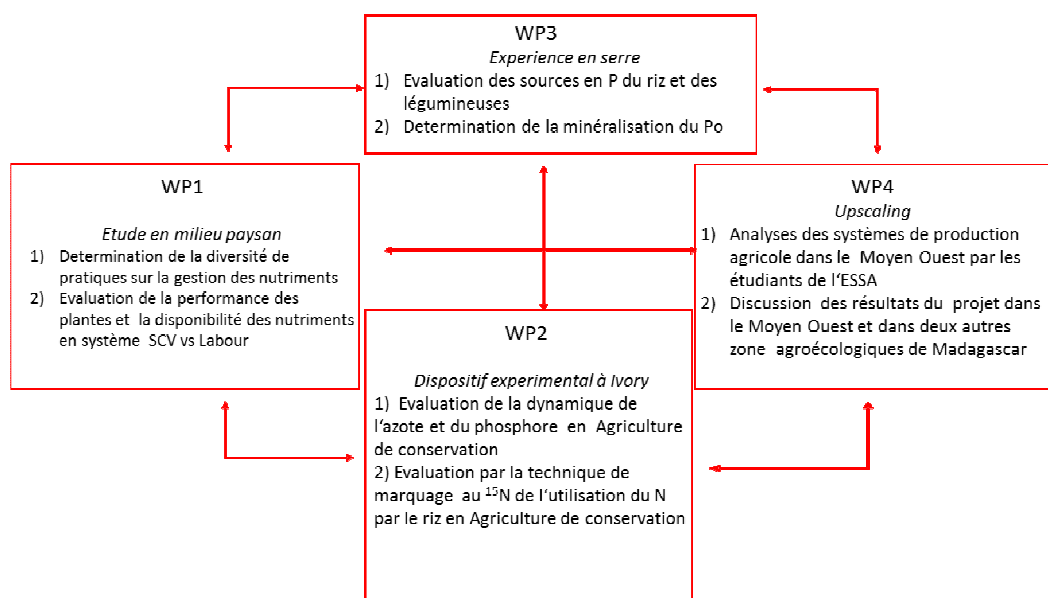
L'ONG Tafa s'est implantée à Ivory (Figure 1) en 1998 où elle a installé un site de recherche pour promouvoir les systèmes sous couverture végétale (SCV) un des composants de l'AC. Le *Striga asiatica* et le *Heteronichus* (insecte terricole) sont les principaux ennemis des cultures (par exemple le riz pluvial et le maïs). Le SCV initié par l'ONG Tafa en 2003 a permis de réduire les pertes en rendement des graines de 50% pour les membres des associations qui le pratiquent.

Les légumineuses comme le *Stylosanthes guianensis* (CIAT 184) sont reconnues plus efficaces dans l'extraction du P du sol par rapport aux cultures céréalières, efficacité liée à divers mécanismes notamment l'acidification de la rhizosphère et l'exsudation d'acide organique (Tang et al., 2004). Elles peuvent alors stocker le P dans leur biomasse aérienne et ensuite le restituer au sol sous forme de résidus de culture. De plus, les légumineuses, par la fixation symbiotique d'azote, sont des sources d'azote de l'ordre de 90 kg N ha<sup>-1</sup> pour le système de culture (Muhr et al., 1999) et par leur enracinement profond (70-150 cm) peuvent également avoir une action bénéfique sur le recyclage ou «pompes biologiques» et la mobilisation du P par le biais des plantes de couverture (Seguy et al., 2009). Des travaux sur l'effet de l'AC ont été réalisés sur l'érosion, la biodiversité, la physiologie de la plante sur la densité de la longueur des racines, le contrôle des mauvaises herbes (Douzet et al., 2007; Villenave et al., 2010; Dussere et al., 2009; Michellon et al., 2011).

### 2.2.3 Projet dans le Moyen Ouest

Peu de travaux ont été faits jusqu'à présent sur la dynamique du N et du P et de leur interaction dans l'AC telle que pratiquée par les petits exploitants dans les régions tropicales. Une limitation en nutriments dans ces systèmes pourrait en effet être l'un des obstacles qui entravent l'adoption de l'AC par ces petits exploitants. Un projet intitulé «Nutrient use and dynamics in Conservation Agriculture including legumes in the Midwest of the Malagasy Highlands», a été initié en partenariat entre le Groupe de Nutrition des Plantes de l'ETH Zurich, le Laboratoire des Radioisotopes (LRI) de l'Université d'Antananarivo et l'Unité de recherche internationale sur l'agriculture durable et le riz systèmes culturaux (SCRiD) et financé par le fond national Suisse (SNF) de la recherche scientifique et la Direction du développement et de la coopération (DDC) pendant 3 ans (septembre 2010 à aout 2013). Ce

projet vise à comprendre comment l'AC affecte les flux et la dynamique de N et de P en présence de légumineuses, et d'identifier des stratégies qui permettront aux agriculteurs d'utiliser ces ressources de façon la plus durable. Cette information contribuera à l'élaboration d'outils permettant d'évaluer la pertinence de l'AC chez les petits exploitants. Quatre axes de travail ont été planifiés pour la réalisation de ce projet dont le premier axe (WP1) est une étude en milieu paysan qui consiste à évaluer la diversité des pratiques de gestion de fertilité et la performance au champ de la culture et la disponibilité des éléments nutritifs en agriculture de conservation versus agriculture conventionnelle, le deuxième axe (WP2) est une étude en milieu contrôlé dans un dispositif au champ installé à Ivory (Figure 1) afin de suivre la dynamique de l'azote et du phosphore testant l'effet de la gestion du sol (SVC vs labour), de la gestion des résidus (restitution vs exportation) et l'effet de l'association du riz avec le *Stylosanthes guianensis* et du riz après un précédent *Stylosanthes guianensis* sur le rendement en riz pluvial, le troisième axe (WP3) est une étude en laboratoire et en serre pour suivre l'effet des apports de résidus sur la dynamique du P en particulier la dynamique du Po et la quantité de P prélevé par le riz et le quatrième axe (WP4) est un regard global sur les résultats obtenus de l'adoption de l'AC (Figure 2).



**Figure 2.** Schéma conceptuel des travaux à réaliser dans le projet MoETH.

Cette étude est située dans le troisième axe (WP3) de ce projet MoETH. Elle est focalisée sur une étude en milieu contrôlé pour une mise au point méthodologique qui est un prérequis pour étudier ce qui se passe au champ.

### **2.3 Problématiques**

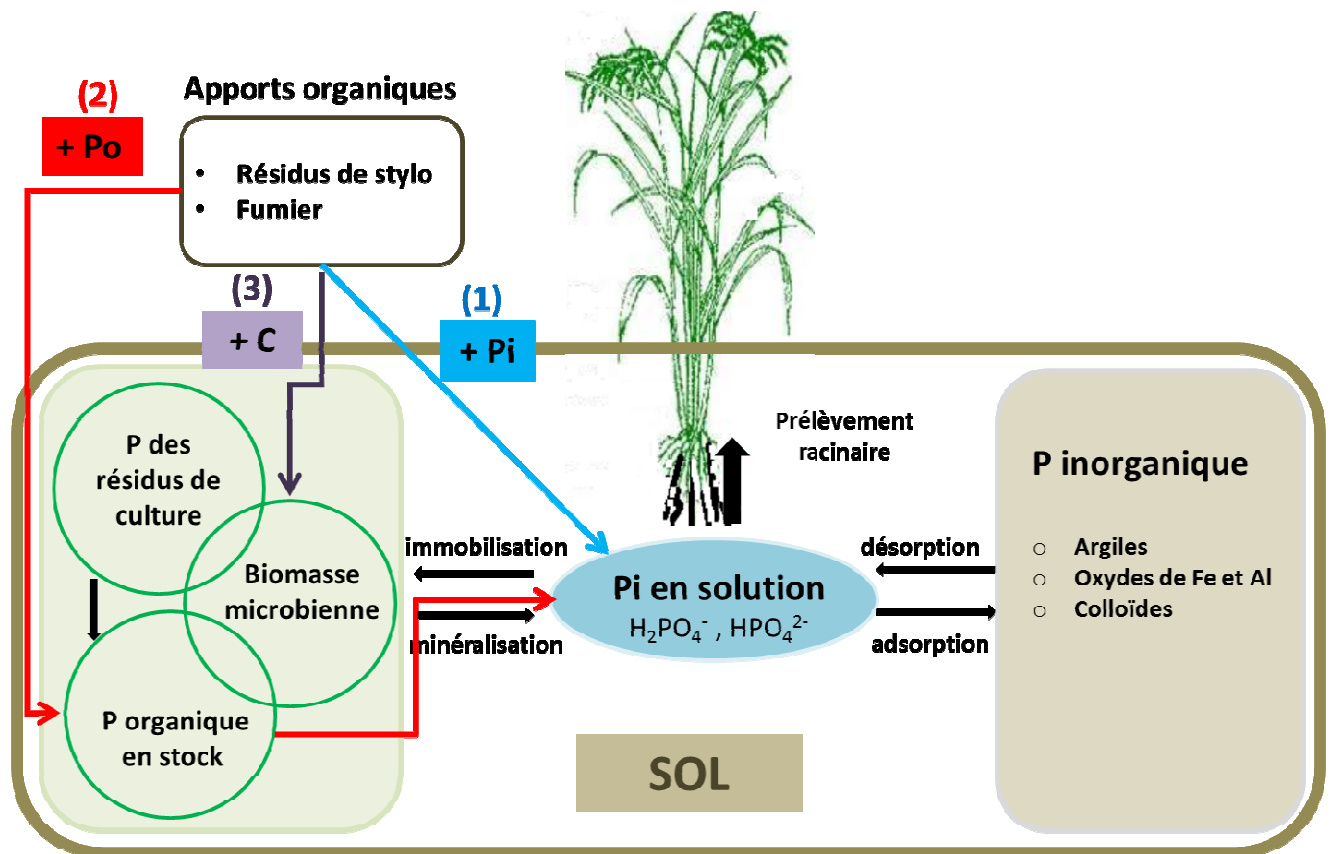
Pour pouvoir augmenter la production agricole sur les tanety, il est impératif d'augmenter la phytodisponibilité du phosphore. Une combinaison d'engrais minéraux et d'intrants organiques serait la meilleure solution pour augmenter le rendement des cultures et en même temps restaurer la matière organique et la fertilité du sol. Cependant, les engrais minéraux sont inaccessibles pour les petites exploitations à cause de leur rareté et de leur prix exorbitant. Très souvent, le paysan n'utilise que des intrants organiques comme le fumier sous forme de poudrette de parc. Les quantités de poudrette disponibles sont cependant limitées à cause du faible nombre d'animaux, et présentent une qualité très variable. Une solution alternative pour augmenter la disponibilité du P dans le sol pourrait être basée sur l'incorporation de plus de matière organique dans le système (résidus de cultures et fumier).

Cette incorporation de matière organique apportera dans le système du Pi (phosphore inorganique), du Po (phosphore organique) et du C (carbone).

### **2.4 Hypothèses**

Les hypothèses de ce travail sont les suivantes (Figure 3):

- (1) Cet apport de Pi supplémentaire pourra directement se refléter par une augmentation du P phytodisponible.
- (2) Cet apport de Po supplémentaire pourra par voie de la minéralisation se traduire en une augmentation du P phytodisponible.
- (3) Cet apport de C supplémentaire pourra entraîner une immobilisation temporaire du Pi par les microbes le protégeant indirectement contre les phénomènes d'adsorption.



**Figure 3.** Représentation simplifiée de la dynamique du P dans un système basé sur des apports organiques et des hypothèses de cette étude.

Ces processus seront affectés par la qualité de la matière organique apportée au sol entraînant des résultats différents suivant l'apport de fumier et l'apport de résidus de légumineuse.

Pour vérifier ces hypothèses, une bonne connaissance sur la nature et les formes chimiques, la répartition, le flux et la phytodisponibilité du phosphore inorganique et organique dans le sol s'avère nécessaire. L'utilisation de traceurs radioactifs ( $^{32}P$  et/ou  $^{33}P$ ) est indispensable pour répondre à ces questions.

## 2.5 Objectif de ce travail

Evaluation de l'effet d'apports de résidus de légumineuse et de fumier sur la phytodisponibilité du phosphore organique du sol dans un Ferralsol du Moyen Ouest de Madagascar.

Objectifs spécifiques de ce travail:

- Vérifier si les cinétiques d'échange isotopiques peuvent être utilisées pour analyser le P phytodisponible des sols à fort pouvoir fixateur et présentant des teneurs très faibles en P phytodisponible dans la solution du sol (chapitre 1).
- Adapter la méthode de détermination de la minéralisation basale du Po sur des sols à fort pouvoir fixateur et à faible phytodisponibilité en P (chapitre 2).
- Déterminer les effets des résidus de légumineuse sur la minéralisation du phosphore organique sur le Ferralsol d'Ivory (chapitre 2).
- Evaluer par la technique isotopique la quantité de phosphore prélevée par le riz pluvial avec des apports organiques sur le Ferralsol d'Ivory (chapitre 3).

## **Chapitre 1**

### **Vérification et validation de l'utilisation de la méthode de cinétique d'échange isotopique dans les sols à très faible teneur en phosphate phytodisponible et à fort pouvoir fixateur vis-à-vis des ions phosphates**

Article accepté au journal «Geoderma» sous la forme originale:

Randriamanantsoa, L., Morel, C., Rabeharisoa, L., Douzet J.M., Jansa, J., Frossard E. 2013.

Can the isotopic exchange kinetic method be used in soils with a very low water extractable phosphate content and a high sorbing capacity for phosphate ions?

<http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.01.019>

## Résumé

La méthode de cinétique d'échange isotopique (CEI) permet d'évaluer le taux de transfert des ions orthophosphate (Pi) entre la phase solide et la solution du sol au cours du temps. Cependant, deux défis doivent être abordés lors de l'utilisation de cette technique dans les sols avec une très faible teneur en Pi extractible à l'eau ( $Pi_{eau}$ ) et une grande capacité d'adsorption pour Pi. Le premier défi est que les méthodes colorimétriques actuelles ne permettent pas de quantifier une concentration de Pi inférieure à  $10 \mu\text{g P L}^{-1}$ . Le deuxième défi est qu'un fractionnement isotopique significatif peut se produire entre les isotopes du phosphore (P) en présence de sols à forte capacité d'adsorption pour Pi. Nous avons évalué: i) si la concentration du complexe bleu de phosphomolybdate (CBPM) dans l'hexanol permettait d'abaisser les limites de détection et de quantification de la méthode de détermination du Pi, ii) si un fractionnement isotopique significatif entre  $^{32}\text{Pi}$  et  $^{33}\text{Pi}$  pouvait se produire au cours des expériences de CEI menées en présence de substrats avec une grande capacité d'adsorption pour Pi (par exemple, la goethite pure ou les sols malagasy) et iii) si la méthode de CEI, lorsqu'elle est couplée avec la concentration à l'hexanol du CBPM pour mesurer le  $Pi_{eau}$ , pouvait détecter un changement dans le Pi isotopiquement échangeable dans un Ferralsol.

Les limites de détection et de quantification du CBPM concentré par l'hexanol ont été respectivement de 0,3 et  $0,8 \mu\text{g P L}^{-1}$  en utilisant une cellule de 10 cm de longueur pour la mesure colorimétrique. La CEI menée sur la goethite amendée avec du Pi et sur les sols malagasy avec  $^{32}\text{Pi}$  et  $^{33}\text{Pi}$  n'a montré aucun fractionnement isotopique systématique entre les deux isotopes, ce qui suggère que dans ces sols  $^{31}\text{Pi}$  et  $^{32}\text{Pi}$  ou  $^{33}\text{Pi}$  ont un comportement similaire lors de l'échange isotopique. L'analyse des sols échantillonnés dans le dispositif expérimental à Ivory a montré une augmentation significative de la quantité de Pi isotopiquement échangeable après 1 minute ( $E_{1\text{minute}}$ ) seulement après une application de P soluble dans l'eau. Cette augmentation s'est accompagnée d'une augmentation des rendements et de l'exportation en P des grains du riz démontrant une augmentation de la phytodisponibilité du P dans ce traitement. En conclusion, comme le procédé de concentration à l'hexanol permet de mesurer une concentration de  $Pi_{eau}$  très faible et que

les différents isotopes du P ont un comportement similaire dans le système sol/solution la méthode de CEI peut être utilisée sur des sols avec un faible  $P_i$  phytodisponible et à fort pouvoir fixateur pour le  $P_i$ . Cependant, les expériences de CEI menées en présence de la goethite soulignent la nécessité de prendre en compte la dispersion des particules pour une interprétation correcte des données isotopiques.

**Mots-clés:** Ferralsol, Andosol, adsorption des ions phosphates, faible phytodisponibilité en P, technique isotopique.

## 1. Introduction

La carence en phosphore (P) est l'un des facteurs les plus importants qui limitent la productivité des cultures dans les régions tropicales. Une grande partie de ces sols contient de faibles à très faibles concentrations d'ions orthophosphate extractibles à l'eau ( $Pi_{eau}$ ), soit à cause de leur teneur faible en P total et/ou à cause de leur contenu élevé en oxydes de fer ou d'aluminium tels que la goethite et la gibbsite qui sont connus pour être des adsorbants forts pour le Pi (Hiemstra et al., 2010; Parfitt, 1978).

Les techniques de marquage basées sur l'utilisation des isotopes radioactifs du P ( $^{32}P$  et  $^{33}P$ ) sont des outils robustes pour évaluer la phytodisponibilité du P pour les plantes (Frossard et al., 2011). La cinétique d'échange isotopique (CEI) est une de ces techniques. Elle permet de mesurer le taux d'échange du Pi entre la solution et la phase solide du sol (Fardeau, 1996). D'un point de vue expérimental, cette méthode consiste à ajouter dans le système sol/eau à un état d'équilibre pour Pi, une quantité connue de Pi marqué sans entraîneur et de suivre à la fois la dilution isotopique avec le temps de ce P radioactif et la concentration de Pi dans la solution sur une courte période (Fardeau et al., 1991). Considérant que l'activité spécifique de Pi (qui est le rapport entre le Pi radioactif et le Pi stable présent dans le compartiment considéré) dans l'extrait à l'eau est identique à l'activité spécifique du compartiment où la radioactivité a été diluée, et sachant la cinétique de dilution du Pi marqué de la solution, nous pouvons calculer la quantité de Pi qui est isotopiquement échangeable en tout temps de l'échange (Fardeau et al., 1991). Cette méthode suppose donc que les isotopes radioactifs et stables de Pi ont exactement le même comportement dans le système sol/eau (c'est à dire qu'il n'y a pas de fractionnement entre les Pi non-radioactifs et les Pi radioactifs) (Cobelli et al., 2000; Fardeau, 1996). En outre, cette méthode exige une détermination précise de la concentration de Pi dans les extraits à l'eau.

Dans les sols tropicaux, la concentration de Pi extractible à l'eau ( $Pi_{eau}$ ) est souvent inférieure à  $10 \mu\text{g P L}^{-1}$  (Oberson et al., 1999), c'est à dire qu'elle est du même ordre de grandeur ou inférieure à la limite de détection des méthodes colorimétriques qui sont utilisées en analyse

de routine (Achat et al., 2009a; Messiga et al., 2010; Van Moorlegem et al., 2011). L'utilisation des valeurs mesurées de  $Pi_{eau}$  proche ou en-dessous de la limite de quantification se traduit souvent par une surestimation de la quantité de Pi isotopiquement échangeable (valeur E) (Hamon and Mc Laughlin, 2002). Une tendance couramment observée est que l'addition de Pi conduit à une diminution apparente de la valeur E dans les sols qui contiennent très peu de Pi extractible à l'eau (Wolf et al., 1986). Ce qui a emmené Wolf et al. (1986) à la conclusion que la technique de dilution isotopique ne doit pas être utilisée dans les sols avec un  $Pi_{eau}$  très faible et une grande capacité d'adsorption pour le Pi. Certains auteurs ont tenté de surmonter ce problème en concentrant le Pi extrait à l'eau sur une résine (Salcedo et al., 1991) ou par évaporation de l'extrait aqueux (Bühler et al., 2003). Ces approches ont permis de mesurer des concentrations du Pi dans les extraits à l'eau aussi faibles que  $4 \mu\text{g P L}^{-1}$ , mais malheureusement le  $Pi_{eau}$  est souvent plus faible dans de nombreux sols tropicaux. Le complexe bleu de phosphomolybdate (CBPM) produit dans certaines méthodes colorimétriques, peut être transféré dans l'isobutanol comme décrit par Pons et Guthrie (1946) et par Jayachandran et al. (1992) dans le but d'éliminer l'interférence du phosphore organique (Po) dans la détermination du Pi en solution. Cette technique peut être utilisée pour concentrer le Pi dans un grand volume d'eau dans l'hexanol (Aubin et al., 2011; Pollet et al., 2011). Ces auteurs ont utilisé la procédure standard NF EN 1189 (AFNOR, 1997) pour mesurer les concentrations de Pi dans les eaux environnementales. La limite de détection de cette dernière méthode a été signalée être aussi faible que  $0,5 \mu\text{g P L}^{-1}$ .

Une deuxième limite à l'utilisation de la CEI sur ce type de sol a été mentionnée par Wolf et al. (1986) qu'une fraction inconnue mais importante du Pi radioactif ajouté (noté par la suite  $^{32}\text{Pi}$  ou  $^{33}\text{Pi}$ ) serait irrémédiablement fixé dans les sols à très fort pouvoir fixateur en réduisant ainsi la fraction de la radioactivité participant réellement à l'échange isotopique. Wolf et al. (1986) ont notifié qu'il y aurait un fractionnement significatif entre le traceur ( $^{32}\text{Pi}$  ou  $^{33}\text{Pi}$ ) et l'élément tracé ( $^{31}\text{Pi}$ ) dans les sols avec une capacité élevée d'adsorption pour Pi. Alors que, Fardeau et al. (1991) ont mentionné qu'il pourrait y avoir un fractionnement entre  $^{32}\text{Pi}$  ou  $^{33}\text{Pi}$  et  $^{31}\text{Pi}$  au cours d'une expérience de CEI, ils ont suggéré que ce ne serait pas détectable. En effet, la différence de masse entre le  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  marqué et le  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  non marqué

est seulement de 1 à 2% (1 g en présence de  $^{32}\text{P}$  ou 2 g en présence de  $^{33}\text{P}$  sur une masse totale de 97 g par mole du Pi non marqué), qui est dans le même ordre de grandeur que la précision de comptage de la radioactivité et inférieure à la variabilité expérimentale observée entre deux échantillons identiques au cours d'une expérience de CEI. Toutefois, ni Fardeau et al. (1991), ni Wolf et al. (1986) n'ont fourni de preuve expérimentale sur l'importance de ce fractionnement isotopique au cours des expériences de dilution isotopique. Cela pourrait néanmoins être vérifié en comparant le devenir de  $^{32}\text{Pi}$  et  $^{33}\text{Pi}$  au cours d'une expérience de CEI menée sur un sol à fort pouvoir fixateur vis-à-vis du Pi. Si un fractionnement important se produisait entre ces deux isotopes puis, implicitement, cela signifierait qu'un fractionnement significatif pourrait également se produire entre  $^{31}\text{Pi}$  et  $^{32}\text{Pi}$  et entre  $^{31}\text{Pi}$  et  $^{33}\text{Pi}$ .

Dans cette étude, nous avons émis les hypothèses que l'expérience de CEI peut fournir des résultats pertinents sur des sols qui ont un  $\text{Pi}_{\text{eau}}$  très faible et une capacité de sorption élevée en Pi, à condition que le  $\text{Pi}_{\text{eau}}$  soit mesuré avec précision et, comme le postule Fardeau et al. (1991), qu'il n'y avait pas de fractionnement isotopique important entre le Pi marqué et le Pi non marqué au cours d'une expérience de CEI. Ces hypothèses seront testées en utilisant l'approche suivante:

Dans la première étape, nous montrerons que la concentration du CBPM dans l'hexanol permettra de déterminer les concentrations de Pi dans les extraits à l'eau du sol ( $\text{Pi}_{\text{eau}}$ ) à une concentration de l'ordre du nanomolaire (autour et en dessous de  $1 \mu\text{g P L}^{-1}$ ). La deuxième étape sera de déterminer s'il y a un fractionnement isotopique significatif entre  $^{32}\text{Pi}$  et  $^{33}\text{Pi}$  au cours des expériences de CEI menées en présence de goethite et de sols qui ont un fort pouvoir fixateur vis-à-vis du Pi. La goethite sera considérée comme un minéral de référence pour les sols tropicaux à fort pouvoir fixateur vis-à-vis du Pi et le taux de fractionnement entre  $^{32}\text{Pi}$  et  $^{33}\text{Pi}$  devrait diminuer au fur et à mesure que l'amendement en Pi de la goethite va augmenter. Et, la troisième étape consistera à montrer que la CEI combinée avec la méthode de concentration du CBPM dans l'hexanol permet de détecter l'impact sur le  $\text{Pi}_{\text{eau}}$  après une seule application de P sous forme d'engrais NPK complexe soluble à l'eau ou de fumier dans un Ferralsol d'Ivory.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Sols

Deux séries de sols ont été utilisées pour ce travail. La première série de sols (1<sup>ère</sup> série) a été utilisée pour évaluer l'importance du fractionnement isotopique entre  $^{32}\text{P}$  et  $^{33}\text{P}$  sur le P isotopiquement échangeable lors des expériences de CEI. La couche supérieure (0-20 cm) des sols des Hautes Terres de Madagascar a été échantillonnée en Octobre 2010 à Betafo (Andosol) situé dans la partie centrale des Hautes Terres (19° 40' S, 46° 58' E, 2000 m d'altitude), à Ivory (Ferralsol) situé dans le Moyen Ouest (19° 33' S, 46° 24' E, à 900 m d'altitude) et à Lazaina (Ferralsol) dans la partie centrale des Hautes Terres (18° 46' S, 47° 32' E, 1500 m d'altitude). Ces sites avaient été en jachère pendant au moins 5 ans. Les sols ont été séchés à l'air et tamisés à 2 mm. Les caractéristiques des sols sont données dans le Tableau 1.

La deuxième série de sols (2<sup>em</sup> série) a été utilisée pour évaluer si une expérience de CEI, en utilisant comme traceur  $^{33}\text{P}$ , pouvait, dans les conditions au champ, fournir des résultats pertinents sur le P du sol isotopiquement échangeable après une seule application de P, sous forme d'engrais NPK complexe soluble à l'eau ou de fumier dans un Ferralsol. La pertinence des résultats obtenus par la CEI est évaluée en comparant le P isotopiquement échangeable pour le rendement du riz pluvial et la quantité de P exporté dans les grains de riz affectée par une application de P. Des sols de la couche supérieure (0-20 cm) ont été échantillonnés en Avril 2011 à partir d'un dispositif expérimental au champ commencé en Novembre 2010 à Ivory (voir la localisation ci-dessus), dans lequel l'effet de différentes fertilisations sur le rendement du riz pluvial a été étudié. La variété de riz (*Oryza sativa*) utilisée est NERICA 4. Trois traitements ont été pris en compte: i) pas d'apport en éléments nutritifs, ii) apport de fumier à raison de 5 t MS ha<sup>-1</sup>, équivalent à 8 kg P ha<sup>-1</sup>, et iii) apport d'engrais minéral soluble l'eau (300 kg de NPK (11, 22, 16) ha<sup>-1</sup> et 80 kg ha<sup>-1</sup>d'urée) à raison de 29 kg P ha<sup>-1</sup>. Les traitements ont été organisés dans un dispositif en blocs aléatoires avec quatre répétitions. Le rendement en grains de riz et la concentration de P dans les grains ont été mesurés sur chaque parcelle.

**Tableau 1.** Quelques propriétés physico-chimiques de la couche arable (0-20cm) de trois sols malagasy (Betafo, Ivory et Lazaina).

		Betafo (Andosol)	Ivory (Ferralsol)	Lazaina (Ferralsol)
Utilisation du sol		<i>Aristida sp.</i> savanne	Jachère	<i>Aristida sp.</i> savanne
Sable	g (kg sol) <sup>-1</sup>	158	489	590
Limon	g (kg sol) <sup>-1</sup>	337	247	70
Argile	g (kg sol) <sup>-1</sup>	505	264	340
Carbone organique <sup>a</sup>	g (kg sol) <sup>-1</sup>	71	10	22
Azote total <sup>a</sup>	g (kg sol) <sup>-1</sup>	4,4	0,7	1,5
pH(H <sub>2</sub> O)		4,3	5,2	5,4
P total	mg (kg sol) <sup>-1</sup>	864±72	161±17	165±38
P organique	mg (kg sol) <sup>-1</sup>	389±12	65±5	45±8
P <sub>0.2</sub> <sup>b</sup>	mg (kg sol) <sup>-1</sup>	354±2	78±5	87±1
P <sub>max</sub> <sup>c</sup>	mg (kg sol) <sup>-1</sup>	5185±321	603±57	760±16
Fe <sub>ox</sub> <sup>d</sup>	g (kg sol) <sup>-1</sup>	0,49	0,53	0,50
Al <sub>ox</sub> <sup>d</sup>	g (kg sol) <sup>-1</sup>	0,05	0,03	0,03
Fe <sub>DCB</sub> <sup>e</sup>	g (kg sol) <sup>-1</sup>	1,85	1,50	1,74
Al <sub>DCB</sub> <sup>e</sup>	g (kg sol) <sup>-1</sup>	0,14	0,06	0,05

<sup>a</sup> Le Carbone total et l'azote total sont analysés avec du NCS Analyzer FlashEA 1112 series x

<sup>b</sup> La quantité de Pi adsorbé par le sol pour atteindre la concentration d'équilibre 0,2 mg P L<sup>-1</sup> dans la solution

<sup>c</sup> La quantité maximum de Pi qui peut être adsorbé par le sol

<sup>d</sup> Fe et Al déterminés par ICP/MS (Agilent 7500 series) dans l'extrait d'oxalate d'ammonium (McKeague and Day, 1966)

<sup>e</sup> Fe et Al déterminés par ICP/MS (Agilent 7500 series) dans l'extrait de Dithionite-Citrate-Bicarbonate (Mehra and Jackson, 1960)

## 2.2. Préparation et amendement de la goethite

La goethite, dont l'adsorption du Pi a été largement étudiée (Hiemstra et al., 2010; Parfitt, 1978), a été choisie comme un minéral modèle pour simuler les propriétés des sols tropicaux fortement altérés. La goethite a été préparée selon le protocole de Schwertmann et Cornell (2000) par la réaction de Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.9H<sub>2</sub>O 1 M et de KOH 5 M à 70 °C pendant 60 h. La suspension a été centrifugée et lavée par dialyse avec de l'eau ultrapure pendant 3 semaines, jusqu'à ce que la conductivité de l'eau du bain atteigne celle de l'eau

ultrapure. Ensuite, la goethite a été séchée à 40 °C, finement broyée dans un mortier en porcelaine et stockée dans un endroit sec et fermé. L'analyse par diffraction rayons X a confirmé la pureté de la goethite. La surface spécifique de la matière minérale, mesurée par la méthode BET, est de 29,8 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>.

Pour obtenir des échantillons de goethite avec différentes quantités de Pi adsorbés sur leur surface, un aliquote de 1 g de goethite a été pesé dans des tubes en plastique de 250 ml et mélangé avec 99 ml d'eau ultrapure ou de NaNO<sub>3</sub> 0,05 M contenant des concentrations croissantes (Pi allant de 775 à 1550 mg de P kg<sup>-1</sup> goethite) ajoutés sous forme de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. La solution de NaNO<sub>3</sub> 0,05 M a été choisie pour avoir une force ionique similaire à ce qui peut être observé dans une solution de sol. Le pH de la solution a été fixé à 4,5 au début de l'expérience. Les suspensions de goethite/Pi ont été agitées pendant 16 h à 20 °C. Des expériences de CEI ont été réalisées sur ces suspensions comme décrit dans la sous-section 2.5. A la fin des expériences de CEI, la concentration du Pi en solution a été déterminée soit par la méthode au vert de malachite (van Veldhoven et Mannaerts, 1987) soit par la méthode de concentration à l'hexanol, décrite ci-dessous, lorsque la concentration de Pi était en-dessous de 3 µg P L<sup>-1</sup>. La quantité de Pi adsorbé par la goethite (P mg kg<sup>-1</sup>) a été calculée à partir de la concentration initiale de Pi (mg P kg<sup>-1</sup>) avant d'ajouter la goethite et la concentration du Pi restant dans la solution après 16 h d'équilibration (mg P kg<sup>-1</sup>). Le pH du filtrat a été mesuré à la fin de l'expérience de CEI. La concentration de fer (Fe) dans la solution filtrée après centrifugation a été déterminée par ICP/MS (Agilent série 7500). L'expérience a été réalisée en quatre répétitions analytiques. L'état de dispersion des particules de goethite dans le système eau/goethite/phosphate a été évalué en mettant quelques gouttes de la suspension non-filtrée sur une lame de microscope. L'observation a été faite sous microscope (Olympus AX70) avec un grossissement de 100 fois.

### **2.3. Statut en P du sol**

Le phosphore total (P total) a été déterminé par digestion humide à 360 °C pendant 2,5 h avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 18 M en utilisant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 9,8 M comme agent oxydant supplémentaire, du sélénium (Se) en poudre comme catalyseur et Li<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour élever le point d'ébullition (Anderson et

Ingram, 1993). Une aliquote de cet extrait a été prise pour mesurer  $P_i$  avec la méthode au vert de malachite (van Veldhoven et Mannaerts, 1987).

Le phosphore organique du sol ( $P_o$ ) a été calculé comme la différence entre  $P$  total et  $P$  inorganique extraite par  $\text{NaOH}$  0,25 M et  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  0,05 M comme décrit par Bowman et Moir (1993). Une aliquote a été prise à partir de cet extrait pour mesurer le  $P_i$  avec la méthode au vert de malachite (van Veldhoven et Mannaerts, 1987). Ces analyses ont été réalisées en quatre répétitions analytiques.

La capacité d'adsorption en  $P_i$  des sols a été déterminée dans des suspensions de sols à 20 C. Des aliquotes de 2 g de sol ont été pesées dans des flacons en plastique de 50 ml et mélangées avec 40 ml de 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  avec des concentrations croissantes en  $P_i$  (huit concentrations par sol allant de 0 à 12000 mg P  $\text{kg}^{-1}$ ) ajoutées sous forme de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Chaque flacon reçoit quelques gouttes de chloroforme pour inhiber l'activité microbienne. Les suspensions ont été agitées pendant 16 h, centrifugées pendant 15 minutes à 5000 rpm et filtrées à travers des filtres de 0,2  $\mu\text{m}$  (membrane Minisart, Sartorius). La concentration  $P_i$  en solution a été déterminée soit par la méthode au vert de malachite (van Veldhoven et Mannaerts, 1987) soit par la méthode de concentration à l'hexanol, décrite ci-dessus, lorsque la concentration de  $P_i$  était en dessous de 3  $\mu\text{g P L}^{-1}$ . La quantité de  $P_i$  adsorbée par le sol (mg P  $\text{kg}^{-1}$ ) a été calculée à partir de la concentration initiale de  $P_i$  ajouté à la suspension (mg P  $\text{kg}^{-1}$ ) et la concentration de  $P_i$  restant dans la solution après 16 h d'équilibration (mg P  $\text{kg}^{-1}$ ). La capacité d'adsorption du sol pour  $P_i$  a été estimée comme (1) la quantité maximale de  $P_i$  qui peut être adsorbée sur le sol ( $P_{i_{\text{max}}}$ ) calculée après l'ajustement de l'isotherme d'adsorption de l'équation de Langmuir décrite par Olsen et Wanatabe (1957) et (2) la quantité de  $P_i$  à être adsorbée sur un sol pour atteindre une concentration d'équilibre de 0,2 mg P  $\text{L}^{-1}$  dans la solution ( $P_{i_{0,2}}$ ) calculée après l'ajustement de l'isotherme d'adsorption de l'équation de Freundlich comme décrit par Barrow (1978). Les équations de Langmuir et Freundlich décrivent très bien nos données ( $r^2 > 0,96$ ). Les expériences ont été menées dans 4 répétitions analytiques et seulement sur la première série du sol.

#### 2.4. Mesure de Pi dans les extraits à l'eau du sol ( $Pi_{eau}$ )

La méthode de concentration à l'hexanol a été adaptée de la procédure standard NF EN (AFNOR, 1997) pour mesurer Pi dans des échantillons des eaux environnementales, comme l'eau de mer. Dix grammes de sol sec ont été pesés dans un flacon Nalgene de 250 ml et mélangés avec 100 ml d'eau ultrapure. La suspension a été agitée pendant 16 h à 20 °C et filtrée à travers une membrane filtrante de 0,2  $\mu$ m de diamètre de pore (Minisart, Sartorius) dans des flacons en plastique de 125 ml. La première étape de la méthode a été la formation du complexe bleu de phosphomolybdate selon la méthode de Murphy et Riley (1962). Cette étape a été réalisée en ajoutant 2,8 ml de solution d'acide de molybdate (solution contenant 100 ml de  $[(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O]$  0,1 M, 300 ml de  $H_2SO_4$  9 M et 100 ml de  $K(SbO)C_4H_4O_6.1/2 H_2O$  0,01 M et 1,4 ml de d'acide ascorbique 0,6 M dans un grand volume de solution de sol (70 ml extrait à l'eau de solution du sol filtré à 0,2  $\mu$ m). La deuxième étape consistait à extraire ce CBPM dans 8 ml d'hexanol. Après avoir agité vigoureusement le mélange pendant une minute, les deux phases ont été séparées avec une ampoule à décanter. La phase supérieure (hexanol) a été recueillie dans un flacon en plastique de 20 ml qui a été hermétiquement fermé après la collection. Une aliquote de l'extrait à l'hexanol (6 ml) a été mélangée avec 0,25 ml d'éthanol pur et remplie à 10 ml avec 3,75 ml d'hexanol pur dans un nouveau flacon en plastique de 20 ml. La troisième étape de la méthode était la mesure de l'absorbance à 680 nm avec une cuve de 10 cm de trajet optique à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible Uvikon 810 Kontron.

Un lot de solution de phosphate pur a été préparé pour la gamme étalon de la méthode utilisant le même mode opératoire que la solution de sol extrait à l'eau décrit ci-dessus.

#### 2.5. Les expériences de cinétique d'échange isotopique (CEI)

Les expériences de CEI ont été réalisées comme décrit par Fardeau et al. (1991). Un gramme de goethite ou 10 g de sol ont été mis en suspension dans 99 ml d'eau ultrapure et dans le cas de la goethite aussi dans 99 ml de  $NaNO_3$  0,05 M. Toutes les suspensions ont été agitées durant la nuit pendant 16 heures pour atteindre un état d'équilibre pour le Pi. Le jour suivant, 1 ml de  $^{32}Pi$  et  $^{33}Pi$  sans entraîneur (l'activité des deux isotopes ajoutés a été environ

40 MBq) ont été introduits simultanément dans la suspension au temps (**t**) égal à zéro. A  $t = 1, 4, 10, 40, 60$  et  $80$  minutes de dilution isotopique, environ  $2,5$  ml de suspensions de sol ont été prélevés avec une seringue en plastique et filtrés à travers des filtres de  $0,2 \mu\text{m}$  (membrane Minisart, Sartorius). En parallèle, la même procédure a été effectuée dans l'eau ultrapure et dans  $\text{NaNO}_3$   $0,05$  M (sans sol ou de goethite) pour déterminer la radioactivité totale ajoutée (**R**). Les deux paramètres **R** et la radioactivité restante dans la solution (**r**) après chaque instant (**t**) de chaque radionucléide ont été comptés avec un compteur  $\beta$  (2500TR Packard).

## 2.6. Calculs et Statistiques

### 2.6.1. Limites de détection et de quantification des méthodes colorimétriques

Les limites de détection et de quantification de la méthode de concentration à l'hexanol ont été estimées selon la recommandation de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (Anonymous, 1987).

La limite de détection (**LD**) est la plus petite concentration qui pourrait être détectée avec une certitude raisonnable:

$$\mathbf{LD} = \mathbf{meanB} + 3 \times \mathbf{SD} \quad (\text{équation 1})$$

La limite de quantification (**QL**) est la plus petite concentration qui pourrait être quantifiée avec une certitude raisonnable:

$$\mathbf{LQ} = \mathbf{meanB} + 10 \times \mathbf{SD} \quad (\text{équation 2})$$

avec **meanB** est la moyenne de 10 blancs, **SD** est l'écart type de 10 blancs.

Les limites de détection et de quantification de la méthode de concentration à l'hexanol ont été estimées à l'aide d'une cuve de  $10$  cm de trajet optique.

Nous avons également mesuré les limites de détection et de quantification de la méthode de Murphy et Riley (1962), en utilisant une cellule de  $1$  cm de longueur, ainsi que celles de la méthode au vert de malachite de Veldhoven et Mannaerts (1987) en utilisant une cellule de

1 et de 10 cm de longueur. Enfin, nous avons également testé les limites de détection et de quantification dans une procédure où  $P_i$  dans la solution a été concentré par évaporation avant de déterminer le  $P_{i_{eau}}$  par la méthode au vert de malachite à l'aide d'une cellule de 1 cm de longueur (Tableau 2).

### 2.6.2. Double comptage $^{32}P$ et $^{33}P$ dans le même extrait

Les deux isotopes  $^{32}P$  et  $^{33}P$  ont été ajoutés simultanément dans les suspensions de sol et de goethite. Par conséquent, leur activité doit être mesurée dans la même solution. Nous avons utilisé deux méthodes pour quantifier la radioactivité émise par chacun des radionucléides: (1) en combinant le comptage Cerenkov avec le comptage en scintillation liquide des particules  $\beta^-$  émises entre la fenêtre d'énergie de 0 et 2000 keV (en utilisant un cocktail de scintillation Ultima Gold) et (2) en comptant, à deux dates différentes, les particules  $\beta^-$  émises entre la fenêtre d'énergie de 0 et 2000 keV.

L'énergie minimale qui provoque un rayonnement Cerenkov d'une particule  $\beta^-$  est de 263 keV (Al-Masri, 1996). La détection par le comptage Cerenkov permet de compter uniquement  $^{32}P$  qui émet des particules  $\beta^-$  entre la fenêtre d'énergie de 0 à 1710 keV. La radioactivité émise par  $^{33}P$ , qui émet des particules  $\beta^-$  entre 0 et 250 keV, peut être déduite de la différence entre le nombre de particules émises  $\beta^-$  entre 0 et 2000 keV, et les comptes de  $^{32}P$  obtenus à partir du comptage de Cerenkov corrigés par l'efficacité de comptage. L'efficacité de comptage par la technique Cerenkov est de 52% pour  $^{32}P$ .

La seconde technique consiste à compter des particules  $\beta^-$  émises entre 0 et 2000 keV à deux dates différentes. Si l'on considère le temps de demi-vie des radionucléides, on peut écrire les équations suivantes montrant la radioactivité émise par  $^{32}P$  et  $^{33}P$  à deux dates différentes et à partir de ces deux équations, nous pouvons calculer la quantité de  $^{32}P$  et  $^{33}P$  présente dans une solution donnée à un moment donné:

$$X_1 + X_2 = C_0(t_0) \quad (\text{équation 3})$$

$$X_1 \times e^{-\lambda_1 t_1} + X_2 \times e^{-\lambda_2 t_1} = C_1(t_1) \quad (\text{équation 4})$$

avec  $C_0(t_0)$  est la radioactivité émise par les deux isotopes ( $^{32}\text{P} + ^{33}\text{P}$ ) à l'instant  $t_0$ ;  $C_1(t_1)$  est la radioactivité émise par les deux isotopes ( $^{32}\text{P} + ^{33}\text{P}$ ) à l'instant  $t_1$ ;  $X_1$  est la radioactivité émise par  $^{32}\text{P}$  et  $X_2$  est la radioactivité émise par  $^{33}\text{P}$  à l'instant 0 et  $\lambda = \ln 2/T$ , où T est le temps de demi-vie du radionucléide considéré.

Ces deux approches ont donné des mesures de radioactivité semblables. La différence entre ces deux approches a été de 0,7% pour  $^{33}\text{P}$  et 2,6% pour  $^{32}\text{P}$ .

### 2.6.3. Calcul des paramètres décrivant le Pi isotopiquement échangeable

Lors d'une expérience de CEI, le rapport de la radioactivité restante dans la solution ( $r_t$ ) après  $t$  minutes d'échange et la radioactivité introduite dans une solution ( $R$ ) peut être décrit par l'équation suivante (Fardeau et al., 1991):

$$r_t/R = m \times (t + (m)^{1/n})^{-n} + r_\infty/R \quad (\text{équation 5})$$

avec  $m$  et  $n$  sont des paramètres d'ajustement associés à l'échantillon de sol. Le paramètre  $m$  est le coefficient qui tient compte des réactions physico-chimiques immédiates. Ce paramètre correspond à la fraction de la radioactivité restant en solution après 1 minute ( $r_{1\text{minute}}/R$ ) quand  $r_\infty/R$  et  $(m)^{1/n}$  sont proches de 0 (Fardeau et al., 1991). Le paramètre  $n$  représente les réactions physico-chimiques lentes et décrit la vitesse de disparition du traceur de la solution après 1 minute (Frossard et Sinaj, 1997). La valeur  $r_\infty/R$  est une estimation de la fraction de la radioactivité restante dans la solution, une fois l'équilibre isotopique est atteinte. Elle est estimée par le rapport entre la quantité de Pi dans la solution du sol, exprimée en  $\text{mg P kg}^{-1}$ , et la quantité de P inorganique total du sol également exprimée en  $\text{mg P kg}^{-1}$  (Fardeau et al., 1991).

Si nous supposons qu'il n'y a pas de fractionnement isotopique entre  $^{31}\text{Pi}$  et  $^{32}\text{Pi}$  ou  $^{33}\text{Pi}$ , l'activité spécifique de Pi dans la solution du sol est identique à l'activité spécifique de Pi isotopiquement échangeable:

$$r_t/(V \times \text{Pi}_{\text{eau}}) = R/E_t \quad (\text{équation 6})$$

avec  $Pi_{eau}$  est la concentration de Pi extrait à l'eau dans la solution du sol ( $mg\ P\ L^{-1}$ ),  $V$  est le rapport entre le volume de la solution et la masse de sol utilisé ( $L\ kg^{-1}$ ), et  $E_t$  représente la quantité de Pi isotopiquement échangeable pendant la durée de l'échange  $t$  ( $mg\ P\ kg^{-1}$ ).

#### 2.6.4. Statistiques

Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée avec le logiciel SAS 9.2. Lorsque l'hypothèse nulle a été rejetée, le test de Student-Newman-Keuls a été utilisé pour calculer la différence significative entre les moyennes des traitements à  $p < 0,05$ .

Les régressions non linéaires ont été effectuées à l'aide du logiciel Statgraphics plus.

### 3. Résultats

#### 3.1. Mesure des concentrations d'ions orthophosphates dans les extraits aqueux

La limite de détection de la méthode colorimétrique de Murphy et Riley (1962) associée à la concentration du CBPM à l'hexanol était de  $0,3\ \mu g\ P\ L^{-1}$  et la limite de quantification était de  $0,8\ \mu g\ P\ L^{-1}$  (Tableau 2). Par rapport aux autres méthodes testées, la méthode de concentration à l'hexanol a donné la plus basse limite de détection et de quantification.

La concentration à l'hexanol combinée avec la méthode colorimétrique au bleu a été utilisée pour mesurer la concentration de Pi extrait à l'eau restant dans le sol et dans des suspensions de goethite lorsque les concentrations sont inférieures ou égales à  $3\ \mu g\ P\ L^{-1}$ , c'est à dire inférieure ou égale à la limite de détection que nous avons mesuré avec la méthode au vert de malachite dans une cellule 10 cm de longueur avec ou sans concentration de Pi (Tableau 2). Le Pi des échantillons suivants a été mesuré par cette méthode: le plus bas niveau de Pi ajouté à la goethite dans l'eau et  $NaNO_3$ , le deuxième niveau plus bas de Pi ajouté à la goethite en  $NaNO_3$ , deux des sols de la 1<sup>ère</sup> série (Ivory et Betafo) et tous les sols de la 2<sup>ème</sup> série (Tableaux 3, 4 et 5).

**Tableau 2.** Comparaison des limites de détection et de quantification de Pi mesuré dans cette étude par différentes méthodes colorimétriques associées à différentes méthodes pour concentrer le Pi

Méthodes	Longueur de la cellule cm	Procédure de concentration	Limite de détection $\mu\text{g P L}^{-1}$	Limite de quantification $\mu\text{g P L}^{-1}$
Vert de Malachite <sup>a</sup>	1	Sans	8,0	11,0
Vert de Malachite <sup>a</sup>	10	Sans	3,0	8,0
Vert de Malachite <sup>b</sup>	1	Evaporation	0,9	3,6
Méthode au bleu <sup>c</sup>	1	Sans	25,0	53,0
Concentration à l'hexanol <sup>d</sup>	10	Hexanol	0,3	0,8

<sup>a</sup> van Veldhoven and Mannaerts (1987)

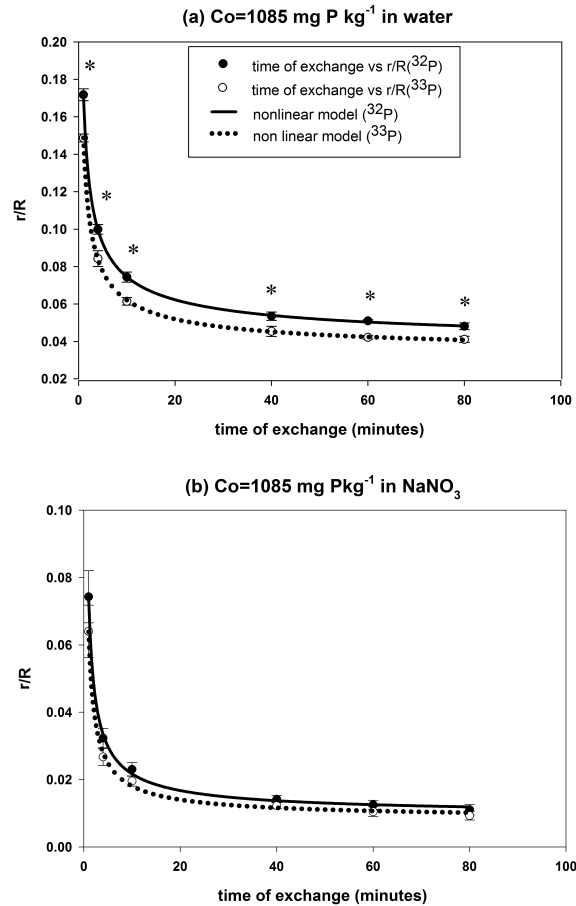
<sup>b</sup> Bühler et al. (2003)

<sup>c</sup> Murphy and Riley (1962)

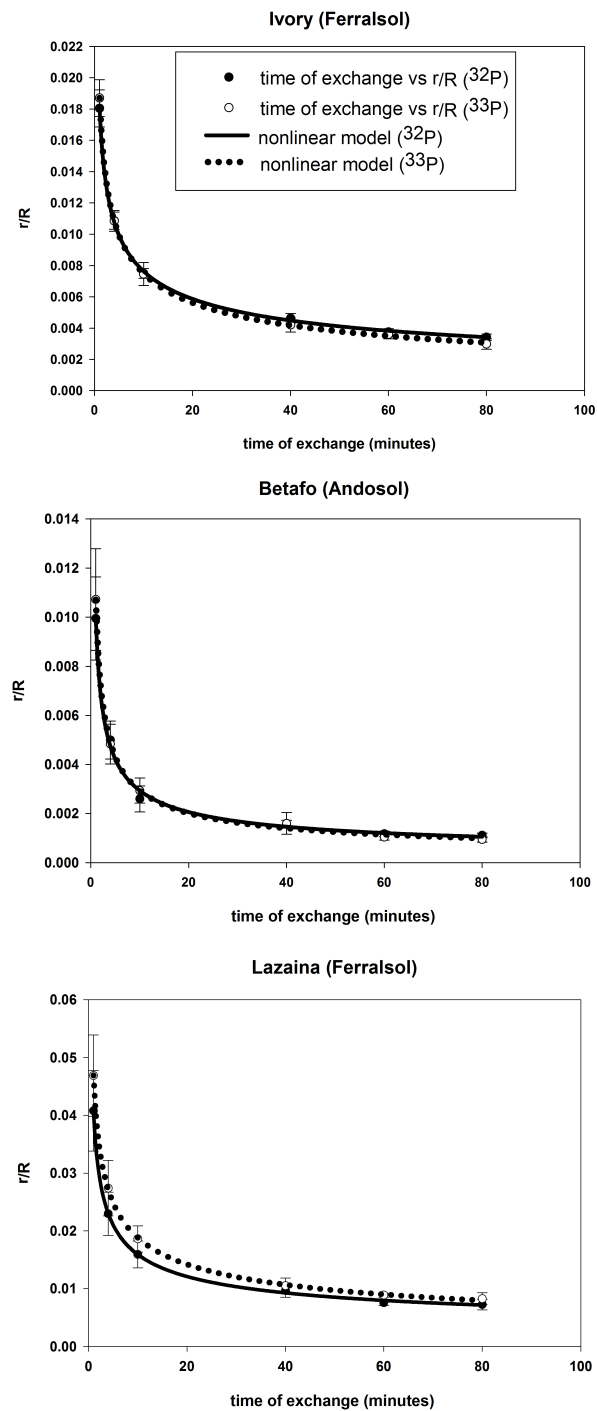
<sup>d</sup> AFNOR NF EN 1189 (1997)

### 3.2. Expérience de cinétique d'échange isotopique avec deux radioisotopes

Les résultats sont reportés sur la Figure 1 et dans le Tableau 3 pour la goethite et la Figure 2 et au Tableau 4 pour la première série de sols.



**Figure 1:** Ratio de <sup>32</sup>Pi (cercle fermé) et <sup>33</sup>Pi (cercle ouvert) restant en solution (**r**) à la radioactivité totale introduite (**R**) en (a) une suspension eau/phosphate/goethite et (b) une suspension NaNO<sub>3</sub>/phosphate/goethite. Les suspensions avaient reçu un apport en Pi initial de 1085 mg P kg<sup>-1</sup> goethite. Elles ont été agitées pendant une nuit puis simultanément marquées avec <sup>32</sup>Pi et <sup>33</sup>Pi. Les écarts-types sont indiqués pour chaque point. Une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre ( $r/R-^{32}\text{P}$ ) et ( $r/R-^{33}\text{P}$ ) est signalée par un astérisque.



**Figure 2:** Ratio de  $^{32}\text{P}$  (cercle fermé) et  $^{33}\text{P}$  (cercle ouvert) restant en solution ( $r$ ) à la radioactivité totale introduite ( $R$ ) dans une solution de suspensions sols d'Ivory, de Betafo et de Lazaina. Toutes les suspensions ont été agitées pendant une nuit puis simultanément marquées avec  $^{32}\text{P}$  et  $^{33}\text{P}$ . Les écarts-types sont indiqués pour chaque point.

### 3.2.1. Expériences de cinétique d'échange isotopique en présence de la goethite

Le pH du filtrat varie de 6,2 à 6,5 à la fin des expériences de CEI. Nous n'avons pas pu déterminer ni le  $Pi_{\text{eau}}$  ni la radioactivité en solution au plus haut niveau de Pi ajouté ( $1550 \text{ mg P kg}^{-1}$ ) dans la suspension eau/goethite. Les particules de goethite ont été totalement dispersées (Figure 3) ce qui a conduit à une très forte concentration des colloïdes dans le filtrat. La concentration de Fe dans le surnageant obtenu après avoir centrifugé la suspension était inférieure à la limite de détection ( $<0,002 \text{ mg L}^{-1}$ ) montrant que la goethite n'avait pas été dissoute au cours de l'expérience.

Comme prévu, le rapport de la radioactivité restante en solution et de la radioactivité introduite, diminue rapidement avec le temps (Figure 1). L'équation 5 décrit étroitement les données expérimentales dans toutes les situations ( $r^2$  est toujours supérieur à 0,99). Les données présentées dans le Tableau 3 montrent que  $m$  était toujours plus élevé en présence de  $^{32}\text{Pi}$  qu'en présence de  $^{33}\text{Pi}$  dans les suspensions eau/goethite, alors qu'aucune différence n'a été observée entre ces deux radioisotopes dans les suspensions  $\text{NaNO}_3$ /goethite. Ce phénomène a conduit à l'augmentation des valeurs  $E_{1\text{minute}}$  mesurées en présence de  $^{32}\text{Pi}$  dans la suspension eau/goethite. Comme prévu,  $Pi_{\text{eau}}$  et  $E_{1\text{minute}}$  augmentaient avec une quantité croissante de Pi adsorbé. Aucune différence n'a été observée pour les valeurs de  $n$  entre les deux isotopes dans les deux suspensions eau/goethite et  $\text{NaNO}_3$ /goethite. Une forte augmentation de  $n$  a été observée entre la première et la seconde dose du Pi, alors qu'une diminution de  $n$  a été observée pour les doses supérieures. En conséquence, les valeurs de  $E_{1\text{jour}}$  augmentaient de la première à la seconde dose de Pi, puis diminuaient à une dose plus élevée d'application de Pi (Tableau 3).

**Tableau 3.** Les paramètres de l'expérience de cinétique d'échange isotopique ( $m$ ,  $n$  et  $r_{\infty}/R$ ), le  $Pi$  extractibles à l'eau ( $Pi_{eau}$ ), le  $pH$  et la quantité de phosphate isotopiquement échangeable en une minute ( $E_{1minute}$ ) et en un jour ( $E_{1jour}$ ) calculés en présence de  $^{32}Pi$  et  $^{33}Pi$  dans les suspensions eau/phosphate/goethite et de  $NaNO_3$  0,05 M/phosphate/goethite suspensions. Toutes les suspensions ont été simultanément marquées avec  $^{32}Pi$  et  $^{33}Pi$ . Les valeurs de  $Pi_{eau}$  mesurées avec la méthode de concentration à l'hexanol sont marquées par un astérisque.

Pi ajouté mg P kg <sup>-1</sup>	Pi adsorbé mg P kg <sup>-1</sup>	Matrice	$Pi_{eau}$ μg P L <sup>-1</sup>	$r_{\infty}/R$ × 10 <sup>-3</sup>	pH	m		n		$E_{1minute}$ mg P kg <sup>-1</sup>		$E_{1jour}$ mg P kg <sup>-1</sup>	
						<sup>33</sup> Pi	<sup>32</sup> Pi	<sup>33</sup> Pi	<sup>32</sup> Pi	<sup>33</sup> Pi	<sup>32</sup> Pi	<sup>33</sup> Pi	<sup>32</sup> Pi
775	775	eau	1,2*	0,14	6,21	0,008b	0,009a	0,36a	0,42a	14a	12a	167a	200a
775	775	NaNO <sub>3</sub>	1,7*	0,22	6,29	0,007a	0,006a	0,40a	0,42a	23a	26a	282a	327a
1085	1076	eau	8,2*	7,58	6,38	0,119b	0,138a	0,60a	0,56a	66a	57b	895a	821a
1085	1083	NaNO <sub>3</sub>	2,2*	2,02	6,43	0,063a	0,069a	0,82a	0,76a	35a	31a	1003a	951a
1245	1215	eau	299	24,1	6,50	0,248b	0,281a	0,30a	0,29a	110a	99b	576a	503a
1245	1241	NaNO <sub>3</sub>	40	3,21	6,48	0,062a	0,072a	0,40a	0,39a	61a	53a	600a	543a
1550	1514	NaNO <sub>3</sub>	363	23,4	6,53	0,465a	0,448a	0,15a	0,18a	76a	78a	214a	264a

Sur une ligne donnée, les différentes lettres indiquent une différence significative entre  $^{32}P$  et  $^{33}P$  dans une matrice et une concentration de  $Pi$  ajouté à  $p < 0,05$

**Tableau 4.** Les paramètres de l'expérience de CEI (**m**, **n** et  $r_{\infty}/R$ ), le  $Pi_{eau}$ , et les valeurs de E en une minute et un jour ( $E_{1minute}$ ,  $E_{1jour}$ ) calculés en présence de  $^{32}P$  et  $^{33}P$  pour la 1<sup>ère</sup> série de sols. Toutes les suspensions de sol ont été simultanément marquées avec  $^{32}P$  et  $^{33}P$ . Les valeurs de  $Pi_{eau}$  mesurées avec la méthode de concentration à l'hexanol sont marquées par un astérisque.

sols	$Pi_{eau}$ $\mu g P L^{-1}$	$r_{\infty}/R$ $\times 10^{-3}$	<b>m</b>		<b>n</b>		$E_{1minute}$ $mg P kg^{-1}$		$E_{1jour}$ $mg P kg^{-1}$	
			$^{33}P_i$	$^{32}P_i$	$^{33}P_i$	$^{32}P_i$	$^{33}P_i$	$^{32}P_i$	$^{33}P_i$	$^{32}P_i$
Betafo	1,4*	0,07	0,011a	0,010a	0,65a	0,55a	1,3a	1,5a	91,0a	61,0b
Ivory	3,2*	0,69	0,019a	0,018a	0,37a	0,36a	1,7a	1,7a	17,0a	16,0a
Lazaina	12,6	3,51	0,046a	0,039a	0,40a	0,43a	2,6a	3,0a	21,0a	24,0a

Sur une ligne donnée, les lettres différentes indiquent une différence significative entre  $^{32}P$  et  $^{33}P$  dans un site donné à  $p < 0,05$

**Tableau 5.** Les paramètres de l'expérience de CEI (**m**, **n** et  $r_{\infty}/R$ ), le  $Pi_{eau}$  et les valeurs de E en une minute et un jour ( $E_{1minute}$ ,  $E_{1jour}$ ) calculées pour la 2<sup>ème</sup> série des sols. Le rendement en grain de riz et de l'exportation de P par les grains est également donné pour chaque traitement. Les valeurs de  $Pi_{eau}$  mesurées avec la méthode de concentration à l'hexanol sont marquées par un astérisque.

Traitement	P échangeable				$E_{1minute}$ mg P kg <sup>-1</sup>	$E_{1jour}$ mg P kg <sup>-1</sup>	Rdt en grains t ha <sup>-1</sup>	P exporté kg P ha <sup>-1</sup>
	$Pi_{eau}$ μgP L <sup>-1</sup>	<b>m</b>	<b>n</b>	$r_{\infty}/R$ × 10 <sup>-3</sup>				
Temoin	2,0*a	0,013a	0,435a	0,43a	1,37b	21,3a	1,99c	2,2b
Fumier	2,9*a	0,017a	0,417a	0,62a	1,72ba	22,5a	2,75b	2,6b
NPK	2,8*a	0,015a	0,377a	0,58a	1,98a	25,6a	3,65a	3,9a

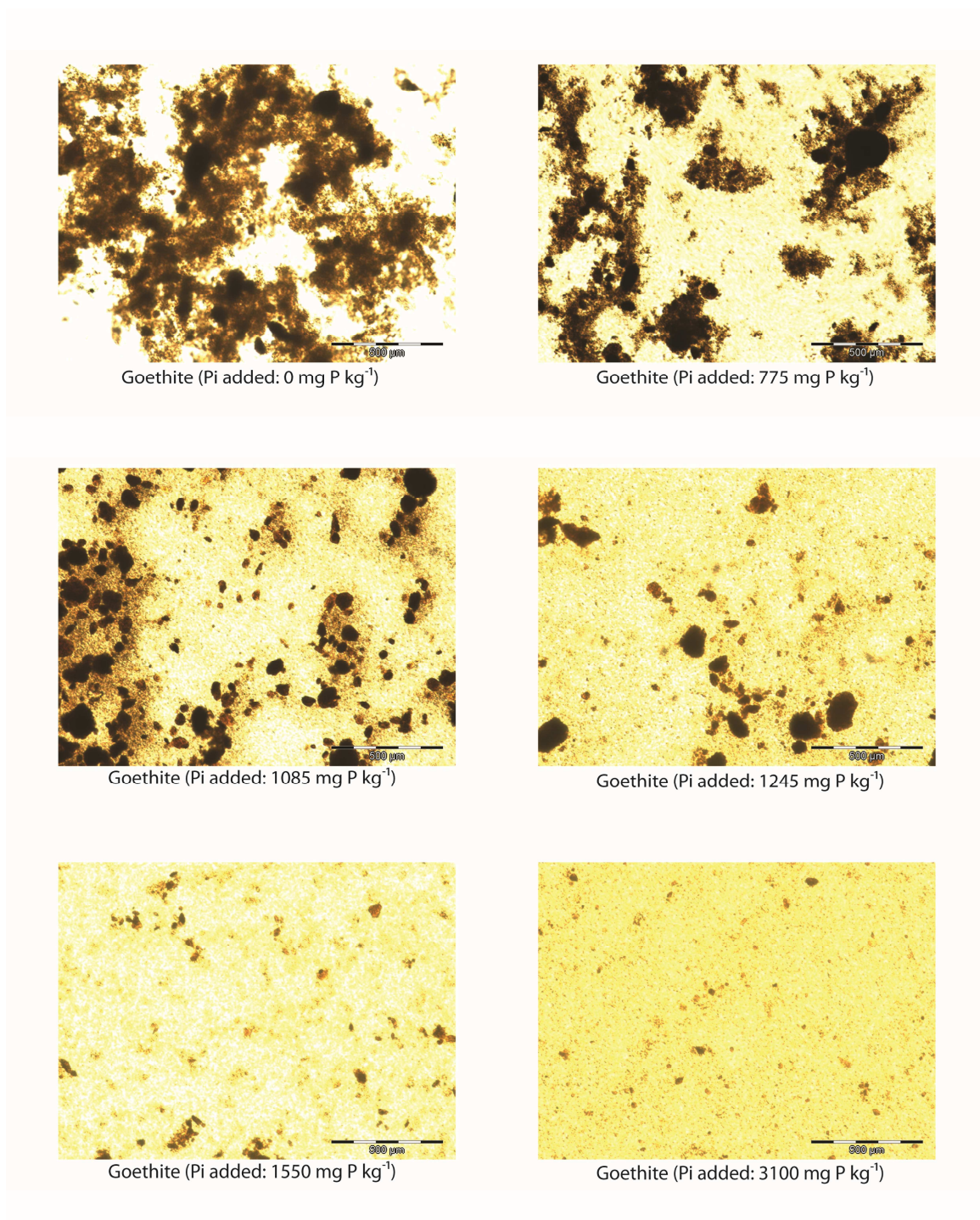
Sur une colonne donnée, les lettres différentes indiquent une différence significative entre les traitements à  $p < 0,05$ .

### 3.2.2. Capacité de sorption des sols et expériences de cinétique d'échange isotopique en présence de sols

La comparaison de la capacité de sorption du Pi observé pour la première série de sols (Tableau 1) avec celles qui sont décrites dans Frossard et al. (1993) a confirmé que ces sols ont une capacité d'adsorption très élevée pour Pi. Les valeurs **m** de nos sols étaient très faibles (0,01 à 0,05), tandis que les valeurs **n** étaient élevées (de 0,36 à 0,65) (Tableau 4). Dans ces sols aucune différence significative n'a été observée entre les valeurs obtenues avec  $^{33}\text{Pi}$  ou avec  $^{32}\text{Pi}$  avec exception de la valeur  $E_{1\text{jour}}$  du sol de Betafo qui était statistiquement plus faible en présence de  $^{32}\text{Pi}$  que dans la présence de  $^{33}\text{Pi}$ .

### 3.3. Évaluation du Pi échangeable dans un sol à très fort pouvoir fixateur pour le Pi avec un apport du fumier ou d'un engrais P soluble dans l'eau

Les résultats sont présentés dans le Tableau 5 pour la 2<sup>ème</sup> série de sols. Les applications d'engrais NPK soluble dans l'eau et le fumier ont eu un effet significatif sur le rendement en grain de riz, tandis que l'application de P soluble dans l'eau a augmenté significativement la quantité de P exporté par grain de riz. L'application de P soluble dans l'eau a fortement augmenté  $E_{1\text{minute}}$  par rapport au témoin non fertilisé. Cependant, dans tous les traitements, la valeur de  $E_{1\text{minute}}$  est restée inférieure à la valeur seuil de  $5 \text{ mg P kg}^{-1}$  en vertu de laquelle les cultures sont censées répondre à la fertilisation en P (Gallet et al., 2003).



**Figure 3.** Dispersion de particules de la goethite dans les goethite/phosphate/eau systèmes affectées par l'augmentation des ajouts de Pi (allant de 0 à 3100 mg de P kg<sup>-1</sup>).

## 4. Discussion

### 4.1. La validation de l'utilisation de l'expérience de CEI dans la deuxième série de sols.

Selon Wolf et al. (1986), l'utilisation de la technique de dilution isotopique n'est pas appropriée dans les sols ayant une teneur très faible de  $P_i$  extractible à l'eau et une grande capacité de sorption pour  $P_i$  comme le  $P_i$  isotopiquement échangeable (valeur  $E$ ) mesuré diminuerait en présence d'un apport d'engrais  $P$  soluble dans l'eau. Le fait que dans notre étude  $E_{1\text{minute}}$  a augmenté par l'application relativement faible de  $P$  ( $29 \text{ kg P ha}^{-1}$ ) dans le sol d'Ivory à fort pouvoir de sorption pour le  $P_i$  suggère que le  $P_{i\text{eau}}$  très faible mesuré avec la méthode de concentration hexanol donne des résultats corrects, mais bien sûr, ce n'est pas une preuve de celle-ci. L'augmentation significative de  $E_{1\text{minute}}$  est en harmonie avec l'augmentation significative de  $P$  exporté par les grains de riz, qui montre clairement une augmentation de la phytodisponibilité du  $P$ . Les valeurs similaires de  $P_{i\text{eau}}$  observées dans les traitements du fumier et des engrais NPK sont assez curieuses comme il y avait moins de  $P$  ajouté par le fumier que par l'engrais soluble dans l'eau (Tableau 5). Cependant, cela peut être expliqué par deux processus: i) l'apport de NPK a augmenté plus fortement à l'origine la phytodisponibilité du  $P$  que dans le fumier, mais comme la plupart du  $P$  phytodisponible a été prélevée par le riz pour produire un rendement plus élevé, ii) L'apport du fumier a baissé l'adsorption du  $P$  et a augmenté la désorption du  $P$ , comme l'ajout de la matière organique pourrait avoir déclenché la libération de composés organiques (comme les acides organiques de faible poids moléculaire) qui ont été en mesure de rivaliser avec le  $P_i$  vers les sites d'adsorption et/ou d'augmenter l'électronégativité de surface des particules du sol pour le maintien de la concentration du  $P_i$  à un niveau supérieur par rapport au témoin, comme ce qui est décrit par exemple par Gaume et al. (2000). Cela montre que la CEI peut produire des résultats pertinents dans un sol présentant une très faible concentration de  $P_i$  extractible à l'eau et une grande capacité d'adsorption pour le  $P_i$ .

Le reste de la discussion montrera que l'utilisation de la CEI sur ce type de sol est rendue possible grâce à une amélioration de la mesure de  $P_{i\text{eau}}$ , que le fractionnement entre les isotopes  $P$  est négligeable et n'a pas besoin d'être pris en compte lors de la conduite de la

CEI, et enfin que l'état de dispersion du substrat, sur lequel la CEI est menée, peut affecter les résultats.

#### **4.2. La mesure des concentrations des ions orthophosphates dans les extraits aqueux**

Les limites de détection et de quantification mesurées avec la méthode au vert de malachite sans concentration préalable de  $P_i$  (Tableau 2) étaient similaires à ceux récemment rapportés dans la littérature. Par exemple, Achat et al. (2009b) et Van Moorlehem et al. (2011) font état d'une limite de détection de 5 à 6  $\mu\text{g P L}^{-1}$  mesurée avec une cellule de 1 cm de trajet optique, tandis que Achat et al. (2009b) font état d'une limite de détection de 2  $\mu\text{g P L}^{-1}$  mesurée à l'aide d'une cellule de 10 cm de longueur. Six et al. (2012) font état d'une limite de quantification de 8  $\mu\text{g P L}^{-1}$  en utilisant une cellule de 1 cm de longueur de trajet optique.

Pour abaisser la limite de quantification, nous avons adapté la procédure standard NF EN 1189 (AFNOR, 1997) consacrée à l'analyse de  $P_i$  dans les eaux de mers, de lacs et des eaux souterraines. Cette méthode consiste d'abord à former le CBPM dans un grand volume de solution de sol par des méthodes colorimétriques usuelles et ensuite de concentrer ce complexe bleu dans un petit volume d'hexanol. Cette concentration à l'hexanol combinée avec la méthode colorimétrique au bleu en utilisant une cellule de 10 cm pour la mesure de l'absorbance, nous a permis de mesurer des concentrations de  $P_i$  extraits à l'eau du sol aussi faible que 1  $\mu\text{g P L}^{-1}$ . Ce résultat est en accord avec ceux de Kiba et al. (2011) qui ont signalé des concentrations semblables en utilisant la même approche méthodologique pour analyser le  $P_i$  extraits de l'eau dans un Alfisol du Burkina Faso.

Cependant, un grand nombre de précautions doivent être prises en compte lors de l'utilisation de cette méthode. En effet, à part les ions orthophosphates ( $P_i$ ), un extrait à l'eau du sol peut contenir en plus des composés organiques du P, des phosphates condensés tels que les polyphosphates inorganiques et des P inorganiques et organiques liés aux particules (Chapman et al., 1997). Le P qui réagit à la solution de molybdate peut entraîner une augmentation de 95% du  $P_i$  extractible total à l'eau lorsque le rapport sol-solution varie à partir de 1:0,67 à 1:10 (Chapman et al., 1997). La présence de particules peut aussi affecter

fortement le P qui réagit avec la solution de molybdate, c'est pourquoi il est recommandé de filtrer la suspension de sol à travers un filtre de 0,2  $\mu\text{m}$  au lieu de 0,45  $\mu\text{m}$  (Sinaj et al., 1998). En outre, il est recommandé de jeter les premiers millilitres avant de recueillir le filtrat comme l'accumulation des matériaux du sol sur la membrane empêche le transfert de colloïdes à travers le filtre (Sinaj et al., 1998). Nous sommes conscients que la présence de silicates et de phosphates organiques dans les extraits à l'eau du sol peut également causer des interférences lors de dosages colorimétriques (Van Moorlehem et al., 2011), mais les effets de ces perturbations n'ont pas été étudiés dans cette étude. L'utilisation de nouveaux flacons est fortement recommandée afin d'éviter toute contamination. En outre, la limite de quantification peut être légèrement réduite avec de l'eau nanopure à la place de l'eau distillée lors de la préparation des suspensions de sol (résultat non montré). Comme la méthode de concentration à l'hexanol a besoin d'environ 100 ml de solution, la filtration peut être fastidieuse surtout pour les sols argileux. Cependant, elle est adaptée pour être utilisée dans les laboratoires des pays en développement et ne nécessite pas de matériel coûteux et spécifique.

#### **4.3. Expérience de cinétique d'échange isotopique avec deux radioisotopes**

Le fractionnement entre deux isotopes différents d'un même atome est déterminé par leur différence de masses. L'isotope plus lourd a une mobilité réduite, donc l'isotope léger devrait réagir plus rapidement. Par contre, l'isotope le plus lourd aura une plus forte énergie de liaison après la réaction (Mook, 2000). Dans ce travail, nous avons observé des valeurs plus faibles de  $m$  et de la proportion de la radioactivité totale ( $r_t/R$ ) restante dans la solution de goethite/eau/Pi suspensions en présence de  $^{33}\text{Pi}$  qu'en présence de  $^{32}\text{Pi}$  (Tableau 3 et Figure 1). Sinon, aucune différence significative n'a été observée entre ces deux isotopes dans les suspensions goethite/ $\text{NaNO}_3$ /Pi et dans les suspensions de sol/eau pour la 1<sup>ère</sup> série de sols. Suivant le concept établi par Mook (2000), les valeurs plus faibles observées en présence du  $^{33}\text{Pi}$  dans le système goethite/eau/Pi pourrait s'expliquer par la plus grande énergie de liaison du  $^{33}\text{Pi}$  à la surface qui doit être surmontée afin que l'échange isotopique puisse avoir lieu entre le Pi dans la solution et le Pi sur la phase solide. Cependant, les différences entre  $^{32}\text{Pi}$  et  $^{33}\text{Pi}$  restent petites, même si un effet significatif est observé sur

**E<sub>1minute</sub>**. Enfin, aucun fractionnement isotopique significatif n'a été observé entre <sup>32</sup>Pi et <sup>33</sup>Pi dans les sols de la 1<sup>ère</sup> série. Par conséquent, nous concluons, comme Fardeau et al. (1991), que le fractionnement isotopique entre <sup>31</sup>Pi et <sup>32</sup>Pi ou <sup>33</sup>Pi peut se produire lors d'une expérience de CEI, mais qu'il n'a pas d'effet significatif sur les résultats obtenus.

Il n'y a pas beaucoup de travaux à comparer avec ce résultat. Jaisi et al. (2010) ont étudié la composition isotopique des atomes d'oxygène liés au Pi et ont montré que, pendant les premières heures de leur expérience, le ferrihydrite absorbait les isotopes les plus légers (Pi enrichi en <sup>16</sup>O), laissant des isotopes plus lourds (Pi enrichi en <sup>18</sup>O) dans la solution. Après 10-15 h à 24 °C, le Pi dans la solution et la phase solide avait la même composition isotopique d'oxygène à cause de l'échange permanent de Pi entre la phase solide et la solution. De même, Delstanche et al. (2009), qui ont étudié l'adsorption du H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub> par le ferrihydrite et la goethite, ont observé une adsorption préférentielle de l'isotope léger du Si sur l'oxyde de fer. Enfin, Goldberg et al. (2009), qui ont étudié l'adsorption du MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> sur le ferrihydrite et la goethite, ont également observé une adsorption préférentielle de l'isotope léger du Mo. Le fractionnement isotopique observé au cours de l'adsorption du Pi, de l'acide silicique et du molybdate sur l'oxyde de fer est resté faible. Le concept présenté par Mook (2000) suggère que ce fractionnement isotopique léger peut être expliqué par une différence de taux de diffusion de ces isotopes à la surface d'adsorption.

#### **4.4 Implication des résultats obtenus sur la goethite pour le sol**

Pour chaque addition de Pi, la concentration de Pi restant dans la solution de goethite est plus faible et la quantité de Pi adsorbé est plus élevée en présence de NaNO<sub>3</sub> qu'en présence d'eau. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par exemple par Celi et al. (2000) montrant que l'augmentation de la force ionique générée par NaNO<sub>3</sub> a entraîné une compression des Pi plus proche de la surface de la goethite, conduisant à une réduction des forces électrostatiques répulsives et à une augmentation de l'adsorption. Une augmentation du pH de la solution a été observée au cours de l'adsorption suggérant qu'au moins une fraction du Pi ajouté a été adsorbée par échange de ligands sur la surface de la goethite entraînant la libération d'OH<sup>-</sup> dans la solution (Parfitt, 1978). La quantité maximale de Pi

adsorbée dans le système eau/goethite atteinte dans notre travail est de  $1,3 \mu\text{mol P m}^{-2}$  pour une concentration à l'équilibre de  $9,6 \mu\text{mol P L}^{-1}$  dans la solution, ce qui est similaire aux résultats obtenus par Ognalaga et al. (1994) qui ont utilisé le même protocole pour produire de la goethite. En augmentant le P ajouté sur la goethite, sa charge négative augmente également sur sa surface, comme indiqué par exemple dans Ognalaga et al. (1994). Ce résultat est dû au développement des forces répulsives entre les particules qui augmentent la dispersion de particules, comme dans les observations faites par Ilg et al. (2008) dans les sols saturés en  $\text{Pi}$ . L'augmentation de la dispersion de goethite/ $\text{Pi}$  peut probablement expliquer les variations des valeurs de  $n$  et de  $E_{1\text{jour}}$  à une augmentation de la concentration du  $\text{Pi}$  ajouté. En effet, comme le montre la Figure 3, la proportion de petites particules a fortement augmenté après l'addition de  $1085 \text{ mg P kg}^{-1}$  goethite. Cela aurait conduit à une augmentation de la surface sur laquelle les P radioactifs ont pu échanger plus rapidement avec du P non marqué, expliquant les valeurs plus élevées de  $n$  et de  $E_{1\text{jour}}$  observées dans ce traitement. Pour l'addition de  $1245 \text{ mg P kg}^{-1}$  goethite, la proportion des petites particules augmentait encore et cela aurait entraîné le transfert des particules à travers la membrane du filtre de  $0,2 \mu\text{m}$ . Mais aucune trace de ces colloïdes n'a été observée dans la solution. La présence des colloïdes aurait conduit à leur tour à une surestimation des valeurs de  $r_t/R$  dans la solution (car non seulement la radioactivité en solution aurait été comptée, mais aussi la radioactivité adsorbée sur ces colloïdes) et à une surestimation du  $\text{Pi}_{\text{eau}}$  causée par la solubilisation de ces colloïdes chargés en  $\text{Pi}$  au cours de la méthode colorimétrique. Une plus forte surestimation de  $r_t/R$  entraînait une baisse de  $n$  et donc de  $E_{1\text{jour}}$  dans ce cas.

Ces résultats suggèrent que l'état de dispersion des particules du sol doit être pris en compte lors des expériences de CEI. Si la dispersion des agrégats est suspectée au cours d'une CEI, les suspensions doivent être centrifugées au lieu d'être filtrées même à  $0,2 \mu\text{m}$ . Toutefois, compte tenu de la stabilité structurale élevée de Ferralsols et Andosols (Dorel et al., 2000; Schack-Kirchner et al., 2007) et le fait qu'ils soient rarement saturés avec du  $\text{Pi}$ , nous ne pensons pas que ce sera un problème majeur dans ces sols.

## 5. Conclusions

La concentration de la CBPM dans l'hexanol offre la plus basse limite de détection et limite de quantification rapportée jusqu'à présent pour les méthodes colorimétriques et permet de mesurer des ions orthophosphate extractibles à l'eau du sol dans l'ordre du nanomolaire. Les ions orthophosphate marqués  $^{32}\text{P}$  et  $^{33}\text{P}$  ont un comportement similaire dans les suspensions sol/eau en présence de sols à fort pouvoir fixateur pour le Pi. Ceci suggère qu'il n'y a pas de fractionnement isotopique significatif entre  $^{31}\text{P}$ -orthophosphate et  $^{33}\text{P}$  ou  $^{32}\text{P}$ -orthophosphate marqué. En conclusion, la méthode de CEI peut être appliquée à des sols tropicaux ayant très peu d'ions orthophosphate extractible à l'eau et à fort pouvoir fixateur vis-à-vis des ions phosphates. Par exemple pour étudier les changements dans la phytodisponibilité de Pi dans les Ferralsols amendés par différents traitements agronomiques. Cependant, l'interprétation des résultats des expériences de CEI nécessite des précautions car les changements dans l'agrégation des particules auront une incidence sur la mesure de Pi isotopiquement échangeable par la suite.

## 6. Remerciements

Les auteurs sont très reconnaissants pour le financement du gouvernement Suisse (bourses pour étudiants étrangers), l'Agence Internationale de l'énergie atomique (AIEA, MAG/00702) et le Fonds National Suisse et l'Agence Suisse pour le Développement et la Coopération (projet n°. IZ70Z0\_131310 / 1). Nous remercions Alain Vives de l'INRA de Bordeaux, Thomas Flura du Groupe de nutrition des plantes de l'ETH Zurich pour leur assistance au laboratoire, Nivotiana Marie Agnès de l'URP SCRID Antsirabe et l'équipe d'Ivory et du LRI pour leur aide sur le terrain. Nous sommes reconnaissants à Simone Nanzer, Federica Tamburini et Hannes Gamper du Groupe de nutrition des plantes de l'ETH Zurich pour leur aide à la caractérisation de notre goethite synthétique. Nous remercions également le Professeur Donald Sparks de l'Université du Delaware.

## **Chapitre 2**

### **Détermination des flux bruts de la minéralisation du phosphore organique dans un sol tropical à fort pouvoir fixateur utilisant la méthode de dilution isotopique**

Article en préparation pour une soumission au journal "Soil Biology and Biochemistry":

Randriamanantsoa, L., Frossard, E., Oberson, A., and Bünemann, E.K. Gross phosphorus fluxes can be measured in a Ferralsol using an isotopic dilution method.

## Résumé

La minéralisation du phosphore organique (Po) peut être d'une grande importance pour la nutrition des plantes dans les sols qui contiennent très peu de phosphore (P) phytodisponible. Une méthode basée sur le principe de la dilution isotopique a été proposée pour évaluer la minéralisation brute du Po du sol. Cette méthode est basée sur la comparaison de l'activité spécifique (AS) de la solution du sol  $P_i$  résultant uniquement de processus physico-chimiques (ligne de base), et de l'AS obtenue sous l'influence de processus physico-chimiques et biologiques (par exemple pendant une expérience d'incubation). Cependant, l'application de cette technique reste un défi dans les sols tropicaux contenant très peu d'ions phosphate ( $P_i$ ) dans la solution du sol. Comme la concentration de  $P_i$  dans la solution du sol est généralement inférieure à la limite de détection des méthodes colorimétriques en analyse de routine. Nous avons utilisé deux stratégies pour contourner ce problème: i) en mesurant le  $P_i$  extractible à l'eau dans la solution du sol à l'aide de la «méthode de concentration à l'hexanol», qui utilise l'hexanol pour concentrer le complexe bleu du phosphomolybdate à partir d'un grand volume (méthode à l'eau) et ii) en extractant plus de  $P_i$  dans la solution du sol avec  $\text{NaHCO}_3$  0,01 M (méthode au bicarbonate). Nous avons testé ces méthodes sur un Ferralsol du Moyen Ouest de Madagascar qui a été amendé avec de résidus de cultures ou non amendé. La limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ) de la mesure de la minéralisation utilisant la méthode à l'eau étaient respectivement de 0,2 et de 0,7 mg P kg<sup>-1</sup> sol jour<sup>-1</sup>. Le taux journalier de la minéralisation brute du Po par la méthode à l'eau estimé après 7 jours d'incubation était respectivement de  $0,8 \pm 0,5$  et  $1,7 \pm 0,2$  mg P kg<sup>-1</sup> sol jour<sup>-1</sup> dans le sol non amendé et amendé par des résidus. La LD, la LQ et la variation entre traitement et répétitions étaient plus élevées pour la méthode au bicarbonate par rapport à la méthode à l'eau en raison de problèmes analytiques. La meilleure option disponible pour la détermination de la minéralisation basale brute du Po est la méthode à l'eau combinée avec la méthode de concentration à l'hexanol pour une détermination de  $P_i$  extrait dans la solution du sol. Mais la minéralisation nette qui alimente le compartiment du P phytodisponible pour la plante reste à quantifier.

**Mots-clés:** dilution isotopique, phosphore organique du sol, minéralisation basale brute, phytodisponibilité, résidus, Ferralsol.

## 1. Introduction

La quantité de phosphore total (P) dans les sols varie de 100 à 3000 mg P kg<sup>-1</sup> (Frossard et al., 2000), mais seulement une fraction, souvent inférieure à 0,1%, est immédiatement disponible pour les plantes. Les plantes absorbent le P sous forme d'ions phosphate (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> et HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) de la solution du sol. Le phosphore organique (Po) représente entre 20% et 80% du phosphore total dans les horizons supérieurs du sol (Dalal, 1977). La libération de P inorganique (Pi) de Po par la minéralisation peut augmenter la disponibilité du phosphore en particulier dans des conditions de carence en P, qui est très répandue dans les régions tropicales (Tiessen et al., 2001). Les sols tropicaux sont essentiellement composés de Ferralsols (37%) et Acrisols (34%) avec de faibles quantités de phosphore total et une grande capacité de sorption des ions phosphate en raison de la présence de l'aluminium et des oxydes de fer (Fairhurst et al., 1999).

La minéralisation basale du Po est la minéralisation du Po dans un sol qui a un taux de respiration constante. Elle représente le potentiel de base d'un sol à libérer à partir du Po du sol du Pi à la solution du sol. La mesure directe de la minéralisation basale du Po par des méthodes d'extraction chimique peut être possible dans les sols sableux à faible sorption en Pi (Grierson et al., 1998; Achat et al., 2009a), mais pas dans les sols à fort pouvoir fixateur vis-à-vis du Pi où Pi est adsorbé rapidement sur les particules du sol dès sa libération dans la solution du sol (Frossard et Sinaj, 1997). Alternativement, la minéralisation brute du Po peut être quantifiée à l'aide de la méthode de dilution isotopique (Oehl et al., 2001). Cette dernière a été utilisée avec succès dans une gamme de sols de Pi tempéré à faible pouvoir fixateur vis-à-vis du Pi (Walbridge et al., 1987; Oehl et al., 2001, 2004; Achat et al., 2009b; Bünemann et al., 2012) et les sols subtropicaux (Bünemann et al., 2007).

L'hypothèse de base de la méthode de dilution isotopique est que le Pi libéré de la minéralisation du Po va diminuer l'activité spécifique (<sup>33</sup>P/<sup>31</sup>P) du phosphate isotopiquement

échangeable dans un sol marqué par  $^{33}\text{P}$  (Walbridge et al., 1987; Oehl et al., 2001). La méthode est basée sur la comparaison de l'activité spécifique (AS) de la solution du sol Pi résultant uniquement du processus physico-chimiques (la ligne de base) et l'AS obtenue sous l'influence du processus physico-chimiques et biologiques (par exemple pendant l'incubation) (Oehl et al., 2001; Lopez Hernandez et al., 1998). Toutefois, l'application de la cinétique d'échange isotopique (CEI) (la méthode pour déterminer la ligne de base) reste un défi dans les sols tropicaux avec une capacité de sorption élevée pour Pi et du P phytodisponible très faible. Si la concentration de Pi soluble dans l'eau est inférieure à  $10 \mu\text{g P L}^{-1}$ , il n'est pas possible de la mesurer de manière fiable avec la méthode colorimétrique standard, même en utilisant une cellule de trajet optique de 10 cm (Randriamanantsoa et al., 2013). Par conséquent, la méthode de dilution isotopique pour déterminer les flux bruts P ne peut pas être utilisée. Certains auteurs ont tenté de surmonter le problème de faible concentration de Pi soluble dans l'eau en mesurant le  $(\text{NH}_4\text{F}/\text{HCl})$  extractible Pi (Walbridge et al., 1987), de la résine extractible Pi (Maertens et al., 2004) ou de la «Diffuse Gradient in Thin-film» (DGT) extractible Pi (Six et al., 2012). Pour la méthode de dilution isotopique, cependant, tous les paramètres isotopiques de la ligne de base et du sol incubé doivent être mesurés dans le même compartiment accessible du sol (Frossard et al., 2011). Notre tentative pour établir la ligne de base à l'aide d'une extraction avec la résine a échoué parce que le temps nécessaire à l'extraction a été très long par rapport aux très rapides réactions d'échange contrôlant l'échange isotopique du Pi dans les sols. La même chose s'applique à la DGT.

L'objectif de cette étude était d'appliquer la méthode de dilution isotopique pour mesurer le taux de la minéralisation brute du Po (Oehl et al., 2001) pour un sol à fort pouvoir fixateur pour Pi et très faible phytodisponibilité en Pi ayant reçu ou non des résidus de légumineuse. Nous avons essayé deux façons de surmonter le problème de très faible concentration de Pi extractible à l'eau:

i) en mesurant le Pi extractible à l'eau dans la solution du sol avec la «méthode de concentration hexanol», qui utilise l'hexanol pour concentrer le complexe bleu du phosphomolybdate (Randriamanantsoa et al., 2013). Cette méthode a été utilisée avec

succès pour déterminer des concentrations très faibles de Pi extrait à l'eau dans une gamme de 1 à 5  $\mu\text{g P L}^{-1}$  dans des Ferralsols et un Andosol de Madagascar (Randriamanantsoa et al., 2013) et dans un Lixisol du Burkina Faso (Kiba et al., 2011).

ii) en augmentant le pouvoir d'extraction du solvant en utilisant du  $\text{NaHCO}_3$  0,01 M, autant pour la détermination de la ligne de base que pour l'expérience d'incubation. L'extractant permet d'augmenter davantage la concentration de Pi en solution.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1 Conception de l'étude

Cette étude en laboratoire, pour évaluer le taux de la minéralisation basale du Po sur un Ferralsol, a été planifiée avec deux niveaux de facteurs, avec deux traitements du sol (amendé avec des résidus et non amendé) et deux méthodes d'extraction ( $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{NaHCO}_3$  0,01 M). La détermination de la ligne de base de l'échange isotopique ainsi que toutes les mesures dans l'expérience d'incubation ont été réalisées avec 4 répétitions.

Le sol utilisé était échantillonné en Octobre 2010 sur l'horizon supérieur du sol (0-10 cm) à la bordure d'un dispositif expérimental testant l'effet de la fertilisation sur le riz pluvial situé à Ivory, dans le Moyen Ouest de Madagascar (19° 33' S, 46° 24' E, à 900 m d'altitude). Les matériaux grossiers et les résidus de végétaux ont été enlevés à la main. Le sol a ensuite été séché à l'air et tamisé à 2 mm. Le sol est un Ferralsol (FAO, 1998) avec 0,26 g d'argile  $\text{g}^{-1}$  de sol sec et 0,25 g de limon  $\text{g}^{-1}$  de sol sec et d'une capacité de rétention en eau (WHC) de 0,46 g  $\text{H}_2\text{O g}^{-1}$  de sol sec. Le site de collection avait été en jachère pendant au moins 5 ans (dominé par des graminées *Aristida*).

Un traitement amendé avec des résidus imitant une situation où des légumineuses sont intégrées comme engrais vert dans le système de culture. *Stylosanthes guianensis* cv. CIAT 184 (stylo) est une légumineuse utilisée dans le Moyen Ouest de Madagascar comme plante de couverture pour améliorer la fertilité des sols, réduire l'érosion des sols et fournir du fourrage pour le bétail durant la saison sèche. Cette légumineuse peut produire jusqu'à

10 t MS ha<sup>-1</sup> (Naudin et al. 2012). Le sol a été amendé avec des résidus de stylo à un taux de 7,69 g MS kg<sup>-1</sup> de sol sec (équivalent à 10 t MS ha<sup>-1</sup>) dans le but d'accroître l'activité microbienne, comme dans Randhawa et al. (2005). Des résidus secs de stylo ont été recueillis en même temps que le sol à Ivory du champ d'un agriculteur adjacent. La biomasse aérienne a été coupée à la fin de la saison des pluies (Avril 2010) et a été laissée sur place avant d'être recueillie en Octobre 2010. Le résidu a été découpé en petits morceaux et broyé à un diamètre inférieur à 1 mm. Les résidus de stylo ont de faibles concentrations en macronutriments (surtout P) comme ils ont été laissés au champ pendant 6 mois avant la collecte (Tableau 1). L'amendement des résidus apporte seulement 2,2 mg P kg<sup>-1</sup> sol.

**Tableau 1.** Quelques propriétés des résidus de *stylosanthes guianensis* de 2 ans collectés à Ivory (Moyenne ± écart-type, n=4 répétition analytique). Les plantes ont été coupées 6 mois avant la collecte des résidus.

Variété	N total g kg <sup>-1</sup>	C total g kg <sup>-1</sup>	P total g kg <sup>-1</sup>	C:N	C:P
CIAT 184	9,6±0,2	457±1	0,3±0,1	47	1623

Un équivalent de 1,5 kg de sol sec a été amendé et pré-incubé pendant 90 jours à 40% WHC et 25 °C dans une chambre d'incubation sombre. Il a été mélangé tous les 30 jours avant le début de l'expérience d'incubation afin de consommer le C facilement dégradable ajouté par les résidus de stylo. Le sol non amendé a été pré-incubé dans les mêmes conditions.

Deux extractants ont été utilisés pour extraire les Pi dans le sol: (i) l'eau ultrapure et (ii) le NaHCO<sub>3</sub> 0,01 M, appelés respectivement par la suite, méthode à l'eau et méthode au bicarbonate. Ces deux extractants ont été utilisés à la fois pour l'expérience à court terme de CEI et pour la détermination de la ligne de base de dilution isotopique provenant du processus physico-chimique et de l'expérience de l'incubation en plus tient compte des processus biologiques.

Dans une étude préliminaire, nous avons comparé l'AS de Pi extrait avec différentes solutions de bicarbonate ( $\text{NaHCO}_3$  0,5 M, 0,1 M et 0,01 M) à l'AS de Pi extrait à l'eau. Selon Fardeau et al. (1988), le rapport de l'AS du Pi dans un extrait donné et du Pi extrait à l'eau est égal à 1 si les deux médias extraient du P dans le même compartiment. Pour le Ferralsol utilisé pour cette étude, des solutions de 0,5 M, 0,1 M et 0,01 M de bicarbonate ont donné respectivement des ratios de 0,4, 0,5 et 0,9. Ainsi, l'extractant  $\text{NaHCO}_3$  0,01 M extrait un peu plus du P seulement que l'eau. Par conséquent, nous avons testé  $\text{NaHCO}_3$  0,01 M comme une alternative à l'eau comme extractant dans la méthode isotopique pour mesurer la minéralisation brute du Po.

## 2.2 Analyse des sols et des résidus végétaux

Le carbone (C) total et l'azote (N) total dans le sol et les résidus de stylo ont été déterminés par combustion sèche à l'aide d'un analyseur NCS (NCS FlashEA 1112 série analyseur Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Le P total dans les résidus de stylo a été déterminé par incinération de 0,2 g de matière végétale à 550 °C pendant 4 h, les cendres sont dissouts dans 2 ml de  $\text{HNO}_3$  15 M et le volume de la solution est complété à 100 ml avec de l'eau ultrapure, suivie d'une mesure colorimétrique du Pi avec la méthode au vert de malachite (van Veldhoven et Mannaerts, 1987). Le P total dans le sol a été déterminé par digestion humide à 360 °C pendant 2,5 h avec  $\text{H}_2\text{SO}_4$  18 M en utilisant  $\text{H}_2\text{O}_2$  9,8 M comme agent oxydant supplémentaire, la poudre Se comme catalyseur et le  $\text{Li}_2\text{SO}_4$  pour élever le point d'ébullition (Anderson et Ingram, 1993). Une aliquote a été prise à partir de la solution diluée issue de la digestion pour mesurer le Pi avec la méthode au vert de malachite (van Veldhoven et Mannaerts, 1987).

Le Pi du sol extrait avec de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 M (Pi ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )) a été déterminé en agitant pendant 16 heures l'équivalent de 1 g de sol sec dans 25 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 M (Saunders et Williams, 1955). Une aliquote du filtrat a été prise pour mesurer Pi ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) avec la méthode au vert de malachite (van Veldhoven et Mannaerts, 1987).

Le Po du sol a été calculé comme étant la différence entre le P total et le Pi extrait à partir du  $\text{NaOH}$  0,25 M et  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  0,05 M comme décrit par Bowman et Moir (1993). Une aliquote a

été prise à partir de cet extrait pour mesurer  $P_i$  avec la méthode au vert de malachite. Le P total a été déterminé en autoclavant une aliquote de l'extrait avec un mélange de digestion (6 g de persulfate d'ammonium dissous dans 100 ml de  $H_2SO_4$  0,9 M) à 121 °C et 1,1 bars pendant 1 h. Le P total dans le produit de digestion a été déterminé par colorimétrie avec la méthode au vert de malachite, après ajustement du pH à 5,5.

Le  $P_{résine}$  extractible à partir du sol a été extrait par une membrane échangeuse d'anion de résine (BDH no.55164, 6 cm x 2 cm) sous une forme de bicarbonate (Kouno et al., 1995).

Le sol présentait une concentration faible de P total et environ 40% de celui-ci était présent en tant que  $P_o$  (Tableau 2).

**Tableau 2.** Caractéristiques de la couche arable (0-10 cm) du Ferralsol d'Ivory avant le début de l'expérience (Moyenne  $\pm$  écart -type, n = 4).

pH ( $H_2O$ )	N total g $kg^{-1}$ sol	C total g $kg^{-1}$ sol	P total mg $kg^{-1}$ sol	$P_o$ mg $kg^{-1}$ sol	$P_i(H_2SO_4)$ mg $kg^{-1}$ sol	$P_{résine}$ mg $kg^{-1}$ sol
5,2 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,0	9,9 $\pm$ 0,4	161 $\pm$ 17	65 $\pm$ 5	46 $\pm$ 1	1,6 $\pm$ 0,5

## 2.3 Mesure de la respiration

La respiration du sol a été mesurée chaque semaine au cours des 30 derniers jours de la pré-incubation et pendant l'expérience d'incubation (21 jours), par piégeage de  $CO_2$  libéré par le NaOH, suivi d'un titrage en retour selon Alef (1995).

## 2.4 Expérience de cinétique d'échange isotopique à court terme

### 2.4.1 Détermination de la ligne de base

Les expériences de cinétique d'échange isotopique (CEI) (Frossard et al., 2011) ont été réalisées pour les 2 traitements du sol trois jours avant le marquage du sol. Un équivalent de sol humide de 10 g de sol sec a été agité dans 99 ml d'eau ultrapure ou de  $NaHCO_3$  0,01 M pendant 16 h afin d'atteindre l'état d'équilibre. Le lendemain, la suspension de sol a été

mélangée avec un agitateur magnétique et 1 ml de traceur  $^{33}\text{Pi}$  (4 MBq pour la méthode à l'eau et de 0,4 MBq pour la méthode au bicarbonate) a été ajouté au temps zéro. Environ 2 ml de la suspension ont été prélevés avec une seringue en polyéthylène après 1, 4, 10, 40, 60 et 80 minutes et filtrés en utilisant un filtre à membrane (0,2  $\mu\text{m}$  taille des pores). La radioactivité restante dans la solution après chaque période d'échange isotopique ( $r_t$ ) a été déterminée. En parallèle, la même procédure a été réalisée sans sol dans l'eau ultrapure ou dans  $\text{NaHCO}_3$  0,01 M pour déterminer la radioactivité totale ajoutée (R). Les activités de R et  $r_t$  ont été mesurées avec un compteur à scintillation liquide (2500 TR, Packard).

Pour la méthode à l'eau, la concentration de Pi dans la solution du sol ( $\text{Pi}_{\text{eau}}$ ) a été déterminée par colorimétrie selon la méthode de concentration à hexanol (Randriamanantsoa et al., 2013). Pour la méthode au bicarbonate, la concentration de Pi dans l'extrait ( $\text{Pi}_{\text{bic}}$ ) a été mesurée en utilisant la méthode au vert de malachite (van Veldhoven et Mannaerts, 1987).

Dans cette étude, aucun inhibiteur microbien n'a été utilisé pendant l'expérience de CEI. Lors d'une étude préliminaire, nous avons testé l'effet de l'inhibiteur microbien ( $\text{HgCl}_2$ ) qui s'est avéré efficace avant (Bünemann et al., 2007 ; 2012). Nous avons retrouvé un faible pourcentage du  $^{33}\text{P}$  ajouté dans le compartiment du P microbien à la fin de l'expérience de CEI (environ 4% du  $^{33}\text{P}$  ajouté en présence et en absence de l'inhibiteur microbien). Alors qu'à titre de comparaison environ 99.8% du  $^{33}\text{P}$  ajouté a disparu de la solution du sol à la fin de la CEI. Nous avons conclu qu'il n'y a aucune raison d'utiliser un inhibiteur microbien sur ce type de sol.

#### *2.4.2 Estimation de la limite de détection et de la limite de quantification de la minéralisation brute du Po*

L'estimation de la limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ) pour la minéralisation brute du Po peut être adaptée à partir des recommandations de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée Chimie (Anonymous, 1987) en évaluant la variation des valeurs extrapolées du Pi isotopiquement échangeable ( $E_t$ ) lors de la détermination de la ligne de base telle que décrite dans Bünemann et al. (2007).

Dans cette étude, la LD est le plus petit taux de la minéralisation brute de Po qui peut être détectée avec une certitude raisonnable, tandis que la LQ est le plus petit taux de la minéralisation brute de Po qui peut être quantifiée avec une certitude raisonnable:

$$LD = \text{meanB} + 3 \times SD \quad (\text{équation 1})$$

$$LQ = \text{meanB} + 10 \times SD \quad (\text{équation 2})$$

où meanB est la moyenne de 10 blancs et SD est l'écart-type de 10 blancs.

Les 10 blancs sont les valeurs de Pi isotopiquement échangeable ( $E_t$ ) après 7,75 jours (divisé par 7,75 pour obtenir l'unité  $\text{mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$ ) provenant de la CEI conduite 10 fois sur un sol non amendé. La valeur de  $E_{7,75j}$  a été calculée par extrapolation avec les équations 3 et 4.

## 2.5 Expérience d'incubation

Une portion (2 kg) du sol pré-incubé a été marquée par une activité totale de  $^{33}\text{P}$  ( $R'$ ) de  $182 \text{ kBq g}^{-1} \text{ sol sec}$  et  $19 \text{ kBq g}^{-1} \text{ sol sec}$  pour la méthode à l'eau et la méthode au bicarbonate, respectivement. Le sol a été porté à 50% WHC par addition d'eau ultrapure et divisé en portions pour chaque date d'échantillonnage. Une autre aliquote du sol marqué a été prise au début de l'incubation (temps zéro) et maintenue pour la mesure de la respiration du sol (hebdomadaire) lors de l'expérience d'incubation comme décrite ci-dessus (2.3).

Les mesures de Pi pendant l'expérience d'incubation ont été effectuées à 1, 3, 7 et 14 jours. La radioactivité restante en solution ( $r_t$ ) a été mesurée avec un compteur à scintillation liquide (2500 TR, Packard) et les comptages ont été corrigés de la décroissance au moment du marquage du sol. La concentration de Pi au cours de l'expérience d'incubation ( $Pi'$ ) dans l'extrait à l'eau du sol ( $Pi'_{\text{eau}}$ ) et l'extrait au bicarbonate ( $Pi'_{\text{bic}}$ ) a été déterminée respectivement par la méthode de concentration à l'hexanol et la méthode au vert de malachite, comme décrite ci-dessus.

## 2.6 Calculs

La ligne de base de la dilution isotopique provenant seulement du processus physico-chimique peut être extrapolée à partir de l'expérience de CEI à court terme à la durée de l'étude d'incubation par la modélisation de la vitesse de diminution de la radioactivité dans la solution du sol à l'équation suivante (Fardeau et al., 1991):

$$r_t/R = m \times (t + (m)^{1/n})^{-n} + r_\infty/R \quad (\text{équation 3})$$

où R est la radioactivité totale introduite dans le système sol/solution en  $^{33}\text{Pi}$  (kBq),  $r_t$  est la radioactivité restante dans la solution après un temps (t) d'échange isotopique (kBq) et  $r_\infty/R$  est estimé comme le rapport de la concentration du présent Pi dans la solution du sol ( $\text{mg P kg}^{-1}$  sol) au total P inorganique du sol ( $\text{mg P kg}^{-1}$  sol). Dans notre cas, le P minéral total du sol a été estimé comme le Pi extrait avec le  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 M (Tableau 2). Les paramètres m et n sont des constantes spécifiques du sol obtenus à partir d'une régression non linéaire entre  $r_t/R$  et t (Fardeau et al., 1991). Cette équation a été choisie plutôt que l'équation puissance simple de Fardeau et al. (1991), parce qu'elle a donné des valeurs plus réalistes de  $E_t$ , surtout lorsque l'on travaille avec des temps d'échanges isotopiques de plus d'une journée.

Si nous supposons que  $^{31}\text{Pi}$  et  $^{33}\text{Pi}$  ont le même comportement dans le système sol/solution, l'AS de Pi dans l'extrait doit être identique à celui de l'AS du Pi qui est isotopiquement échangeable ( $E_t$ ):

$$r_t/(V \times \text{Pi}) = R/E_t \quad (\text{équation 4})$$

où Pi est la concentration de Pi ( $\text{mg P L}^{-1}$ ), soit dans l'extrait à l'eau du sol ( $\text{Pi}_{\text{eau}}$ ) ou dans l'extrait au bicarbonate ( $\text{Pi}_{\text{bic}}$ ), V est le rapport de la solution de sol ( $\text{L kg}^{-1}$ ), et  $E_t$  ( $\text{mg P kg}^{-1}$  sol) est la quantité de Pi isotopiquement échangeable dans le temps (t) d'échange de la valeur extrapolée de la CEI à court terme.

L'équation 4 a également été utilisée pour déterminer la quantité de Pi isotopiquement échangeable ( $E_t'$ ) sur chaque jour d'échantillonnage à l'aide de R' appliqué au sol incubé et les paramètres  $r_t'$  et  $\text{Pi}'$  déterminés dans l'expérience d'incubation. Le temps (t) considéré est

le moment de la filtration c'est-à-dire le jour d'échantillonnage, plus 0,75 jour pour le pesage, l'extraction et la filtration.

Le taux de la minéralisation brute du Po a été déterminé en soustrayant à la même date le  $E_t'$  mesuré sur un jour donné de l'incubation au  $E_t$  extrapolé à partir de l'expérience CEI à court terme correspondant.

Le taux quotidien de la minéralisation brute de Po ( $\text{mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$ ) à chaque jour d'échantillonnage pendant l'incubation peut donc être déterminée en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Taux journalier de la minéralisation brute de Po} = (E_t' - E_t) / t \quad (\text{équation 5})$$

où  $E_t'$  ( $\text{mg P kg}^{-1} \text{ sol}$ ) est la quantité mesurée de Pi isotopiquement échangeable sur un temps donné de l'incubation,  $E_t$  ( $\text{mg P kg}^{-1} \text{ de sol}$ ) est la quantité de Pi isotopiquement échangeable extrapolée à partir de l'expérience CEI à court terme pendant un temps donné et  $t$  (jour) est le temps de filtration (égal au temps de la date du prélèvement majoré de 0,75 jours comme décrit ci-dessus).

## 2.7 Statistiques

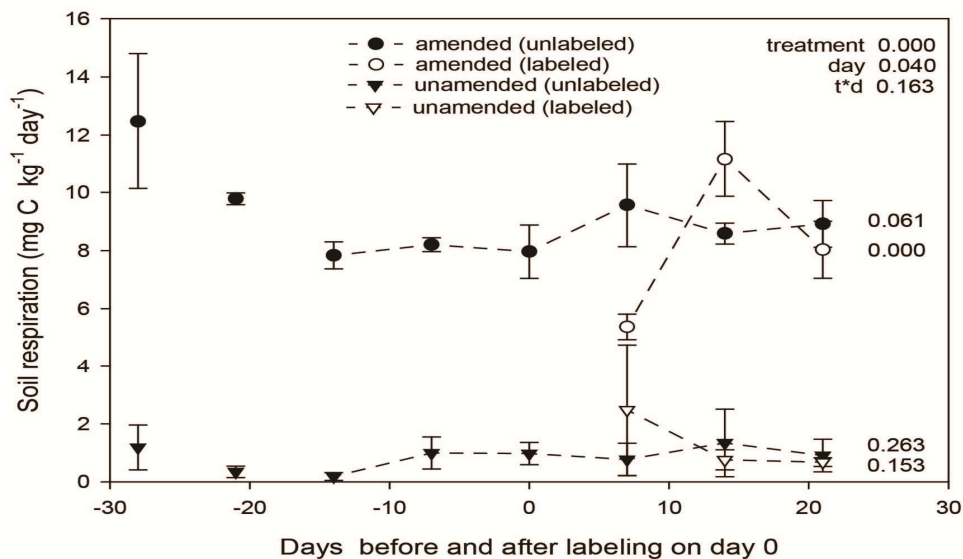
Une ANOVA à deux facteurs a été utilisée pour analyser les paramètres de la CEI avec les facteurs: la méthode d'extraction, le traitement du sol et de leur interaction, suivi par le test de Student-Newman-Keuls en cas de signification à  $p < 0,05$ . Les mesures pendant l'expérience d'incubation (le taux de respiration, par exemple) ont été analysées par une ANOVA à deux facteurs avec les facteurs: le traitement du sol, le jour et leur interaction. Étant donné que cette interaction était significative pour certaines mesures, une ANOVA simple avec le facteur jour a également été effectuée pour chaque traitement séparément. Toutes les analyses de variance ont été réalisées avec le logiciel SAS 9.2.

Une régression non linéaire a été utilisée pour déterminer les paramètres  $m$  et  $n$  de l'équation 3 en utilisant Statgraphics plus.

### 3. Résultats

#### 3.1 La respiration du sol

Le taux de respiration dans les sols non marqués amendé et non amendé est resté constant au cours des 14 jours précédant la date du marquage (jour 0) et pendant l'expérience d'incubation (21 jours après le jour 0) (Figure 1). Le taux journalier moyen de la respiration dans le sol amendé ( $8 \text{ mg C kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ ) est 5 fois plus élevé que dans le sol non amendé ( $1,5 \text{ mg C kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ ). Dans le sol amendé, la perturbation du sol pendant le marquage a diminué la respiration au 7<sup>iem</sup> jour après le marquage et elle a augmenté au 14<sup>iem</sup> jour après le marquage, alors que la respiration est restée largement inchangée dans le sol non amendé.



**Figure 1.** Le taux moyen de respiration pendant la pré-incubation (avant le jour 0) et pendant l'expérience d'incubation (à partir du jour 0) du sol amendé (cercle) et du sol non amendé (triangle). Les barres d'erreur indiquent l'écart-type de 4 répétitions. Niveaux de signification de ANOVA à deux facteurs avec les facteurs: le traitement, le jour et leur interaction (jour \* traitement) sont indiqués dans le coin supérieur droit. Niveaux de

signification du facteur jour en excluant les deux premières mesures dans la pré-incubation pour chaque traitement sont présentées après la valeur à 21 jours.

La respiration cumulative au cours de l'expérience d'incubation n'a pas été affectée par le marquage dans les deux traitements, avec une libération de C total de 5-8 fois plus élevé dans le sol amendé que dans le sol non amendé (Tableau 3).

**Tableau 3.** Minéralisation brute cumulée du C au cours de l'expérience d'incubation (14 jours) et rapport C:P de la minéralisation brute pour les sols amendés et non amendés d'Ivory.

Traitement	<sup>33</sup> P	C minéralisation (cumulé) mg C kg <sup>-1</sup> sol	C:P minéralisation brute <sup>a</sup>
Amendé	Non marqué	127 a	12
	Marqué	116 a	11
Non amendé	Non marqué	15 b	5
	Marqué	23 b	7

<sup>a</sup> C minéralisation brute = Respiration/(1 - efficacité microbienne), avec l'efficacité microbienne de 0,4 (Murphy et al., 2003); minéralisation brute de P déterminée après 14,75 jour par la méthode à l'eau.

**Tableau 4.** Valeur moyenne des paramètres de CEI à court terme déterminée sur le sol non amendé et amendé en utilisant la méthode à l'eau et au bicarbonate (4 répétitions). Dans une colonne donnée, des lettres différentes indiquent des différences significatives d'après le test de Student-Newman-Keuls à  $p < 0,05$ . La limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ) du taux de la minéralisation brute du Po après 7,75 jours sont également montrées.

Méthode	Traitement	m	n	Pi mg P kg <sup>-1</sup> sol	r <sub>∞</sub> /R × 10 <sup>-3</sup>	E <sub>1min</sub> mg P kg <sup>-1</sup> sol	DL mg P kg <sup>-1</sup> sol	QL mg P kg <sup>-1</sup> sol
Eau	Amendé	0,017c	0,372a	0,03c	6,1c	1,6b	nd	nd
	Non amendé	0,006d	0,370a	0,01d	1,8c	1,4b	0,20	0,75
Bicarbonate	Amendé	0,260a	0,264b	0,39b	86,3b	1,5b	nd	nd
	Non amendé	0,233b	0,200c	0,47a	102,8a	1,9a	0,70	1,28
Niveau de signification (p)								
Méthode		0,000	0,000	0,000	0,000	0,026		
Traitement		0,000	0,002	0,000	0,044	0,196		
Méthode * Traitement		0,033	0,003	0,000	0,004	0,007		

**Tableau 5.** Minéralisation brute du Po du Ferralsol d'Ivory ayant reçu un amendement en résidus et non amendé en utilisant la technique de dilution isotopique avec la méthode à l'eau et la méthode au bicarbonate. La moyenne de 4 répétitions est donnée avec l'écart type.

Méthode	Traitement	Temps	$E_t$ extrapolée	$E_t'$ mesurée	Minéralisation brute Po cumulée	Minéralisation brute Po journalière
		jour	mg P kg <sup>-1</sup>	mg P kg <sup>-1</sup>	mg P kg <sup>-1</sup>	mg P kg <sup>-1</sup> jour <sup>-1</sup>
Eau	Amendé	3,75	21,2±1,8	28,2±2,7	7,0±2,5	1,9±0,7
		7,75	24,3±1,9	37,2±2,3	12,8±1,8	1,7±0,2
		14,75	27,0±1,9	44,0±6,7	17,0±6,6	1,2±0,4
	Non amendé	3,75	19,5±2,0	22,2±1,9	2,7±0,3	0,7±0,1
		7,75	22,6±2,2	29,0±3,6	6,5±4,2	0,8±0,5
		14,75	25,3±2,2	30,4±3,9	5,1±4,3	0,3±0,3
Bicarbonate	Amendé	3,75	10,9±1,7	22,4±1,3	11,6±1,5	3,1±0,4
		7,75	12,5±2,0	34,6±2,6	22,1±4,3	2,9±0,6
		14,75	14,1±2,2	28,4±1,4	14,4±2,4	1,0±0,2
	Non amendé	3,75	9,1±0,8	16,2±0,9	7,1±1,6	1,9±0,4
		7,75	10,2±1,0	24,0±0,3	13,8±0,9	1,8±0,1
		14,75	11,3±1,1	24,9±0,6	13,5±1,7	0,9±0,1

### 3.2 Paramètres de la CEI

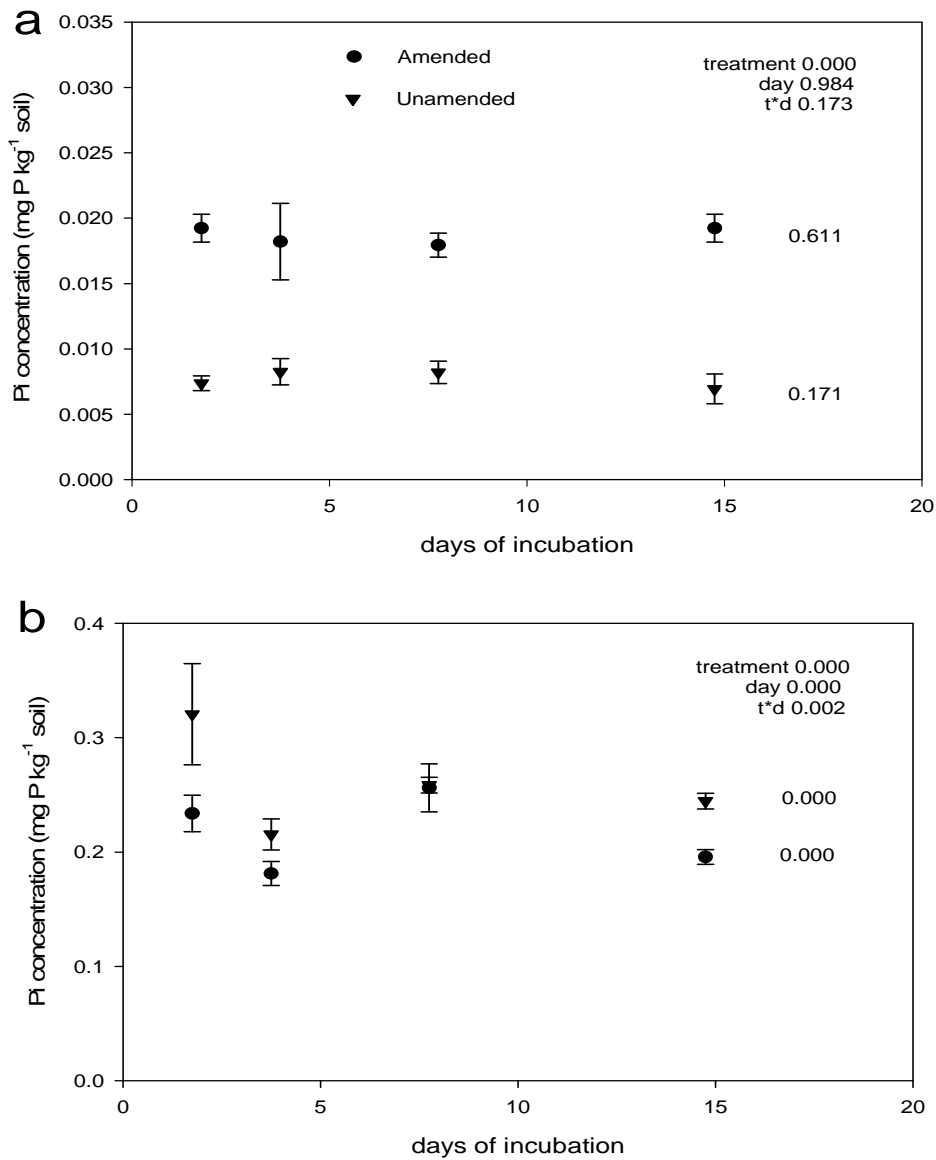
Pour la méthode à l'eau, l'amendement a conduit à une augmentation de  $m$  et de  $Pi_{\text{eau}}$ , mais n'a eu aucun effet significatif sur  $n$  et  $E_{1\text{minute}}$  (Tableau 4). En présence du bicarbonate, l'amendement conduit à une augmentation de  $m$  et  $n$ , il conduit également à une diminution de  $Pi_{\text{bic}}$  et  $E_{1\text{minute}}$ , ce qui est très surprenant. La limite de détection et la limite de quantification du taux de la minéralisation brute de  $Po$  dans le traitement non amendé étaient respectivement de 0,20 et 0,75 mg P kg<sup>-1</sup> sol jour<sup>-1</sup> pour la méthode à l'eau (Tableau 4). Les valeurs correspondantes pour la méthode au bicarbonate étaient de 0,70 et 1,28 mg P kg<sup>-1</sup> sol jour<sup>-1</sup>.

### 3.3 Expérience d'incubation

#### 3.3.1 Concentration en $Pi$

La concentration moyenne du  $Pi$  dans l'extrait à l'eau du sol ( $Pi'_{\text{eau}}$ ) au cours de l'expérience d'incubation est respectivement de  $0,007 \pm 0,001$  mg P kg<sup>-1</sup> et de  $0,020 \pm 0,003$  mg P kg<sup>-1</sup> pour le sol non amendé et amendé (Figure 2a). Le  $Pi'_{\text{eau}}$  est resté constant pendant l'expérience d'incubation dans le sol amendé avec des résidus et non amendé. Pour le sol amendé avec des résidus, le  $Pi_{\text{eau}}$  déterminé au cours de l'expérience de CEI (Tableau 4) était légèrement supérieur au  $Pi'_{\text{eau}}$  mesuré dans l'expérience d'incubation (Figure 2a), tandis que les valeurs correspondantes étaient similaires pour le sol non amendé.

La concentration moyenne du  $Pi$  dans l'extrait au bicarbonate du sol ( $Pi'_{\text{bic}}$ ) au cours de l'expérience d'incubation était respectivement de  $0,217 \pm 0,033$  mg P kg<sup>-1</sup> et  $0,260 \pm 0,045$  mg P kg<sup>-1</sup> pour le sol non amendé et amendé avec d'importantes fluctuations au cours du temps (Figure 2b). Ainsi,  $Pi'_{\text{bic}}$  était 10-30 fois plus élevé que  $Pi'_{\text{eau}}$  pour les deux traitements. Dans les deux traitements, le  $Pi_{\text{bic}}$  déterminé dans l'expérience de CEI (Tableau 4) était significativement plus élevé que  $Pi'_{\text{bic}}$  dans l'expérience d'incubation (Figure 2).



**Figure 2.** L'évolution de la concentration de Pi au cours de l'expérience d'incubation avec la méthode à l'eau (a) et avec la méthode au bicarbonate (b). Les barres d'erreur indiquent l'écart-type de 4 répétitions. Niveaux de signification de ANOVA à deux facteurs avec des facteurs: le traitement, le jour et leur interaction (traitement \* jour) sont indiqués dans le coin supérieur droit. Le niveau de signification du facteur jour pour chaque traitement est présenté après la valeur de 14 jours.

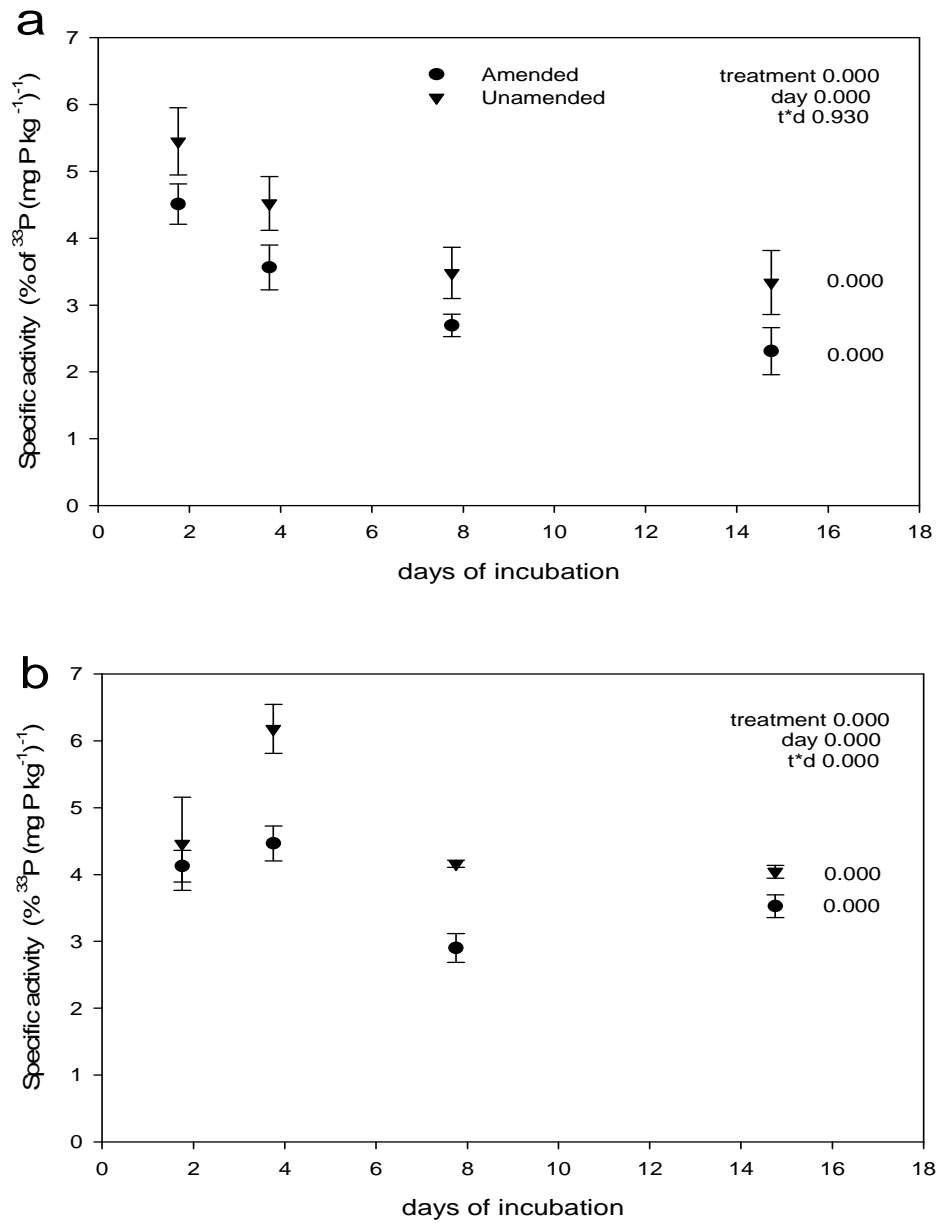
### 3.3.2 Activités spécifiques

Dans les deux traitements, l'AS dans les extraits à l'eau du sol a diminué au fil du temps (Figure 3a), avec des valeurs plus élevées dans le sol non amendé. Aucune tendance temporelle claire n'a été observée dans la méthode au bicarbonate et c'était loin d'être aussi évident que dans la méthode à l'eau, puisque les valeurs issues de la première mesure étaient inférieures à celles de la seconde (Figure 3b).

### 3.4 Minéralisation brute du Po

Les valeurs mesurées  $E_t$  étaient plus élevées que les valeurs correspondantes  $E_t$  extrapolées et la minéralisation brute du Po cumulée a augmenté dans tous les traitements jusqu'à 7 jours d'incubation (Tableau 5). Par la suite, une nouvelle augmentation a été observée uniquement pour le sol amendé avec des résidus en utilisant la méthode à l'eau.

Le taux journalier de la minéralisation brute de Po dans le sol non amendé estimé après 7 jours d'incubation était respectivement de  $0,8 \pm 0,5$  mg P kg<sup>-1</sup> sol jour<sup>-1</sup> et  $1,8 \pm 0,1$  mg P kg<sup>-1</sup> sol jour<sup>-1</sup> pour la méthode à l'eau et la méthode au bicarbonate (Tableau 5). Les valeurs correspondantes dans le sol amendé a été de  $1,7 \pm 0,2$  mg P kg<sup>-1</sup> sol jour<sup>-1</sup> et de  $2,9 \pm 0,6$  mg P kg<sup>-1</sup> sol jour<sup>-1</sup>. Ainsi, la méthode d'extraction a eu un effet significatif sur le taux quotidien de la minéralisation basale brute du Po, avec un taux deux fois plus élevé pour la méthode au bicarbonate. Pour les deux méthodes, la minéralisation brute du Po est toujours plus grande dans le sol amendé avec des résidus que dans le sol non amendé.



**Figure 3.** Evolution de l'activité spécifique lors de l'expérience d'incubation avec la méthode à l'eau (a) et avec la méthode au bicarbonate (b). Les barres d'erreur représentent les écarts-types des 4 répétitions. Les niveaux de signification de ANOVA à deux facteurs avec des facteurs: le traitement, le jour et leur interaction (traitement \* jour) sont indiqués dans le coin supérieur droit. Les niveaux de signification du facteur jour pour chaque traitement sont présentés après la valeur de 14 jours.

## 4. Discussion

### 4.1 Concentrations de Pi et des activités spécifiques

Le  $Pi_{eau}$  dans le sol non amendé est très faible dans le même ordre de grandeur que le Pi rapporté pour la savane tropicale de Colombie (Oberson et al., 1999) ainsi que pour un des sols tropicaux en provenance de Madagascar (Randriamanantsoa et al. 2013) et 10 fois inférieur à la concentration de Pi rapporté pour un sol de prairie non fertilisé en P de la Suisse (Bünemann et al., 2012). L'amendement des résidus accroît de 2 fois le  $Pi_{eau}$  par rapport au sol non amendé. Randhawa et al. (2005) a signalé que le  $Pi_{eau}$  étaient 6 fois plus élevé dans le sol amendé avec des résidus que le traitement non amendé au bout de 3 applications répétées de résidus équivalent à  $45 \text{ t ha}^{-1}$ , qui a augmenté le P total du sol de  $60 \text{ mg P kg}^{-1}$ . Le  $Pi_{eau}$  mesuré lors de l'expérience de CEI (Tableau 4) et le  $Pi'_{eau}$  mesuré lors de l'étude d'incubation (Figure 2a) a donné des résultats similaires pour le sol non amendé, alors que dans le sol amendé, le  $Pi_{eau}$  était légèrement supérieur à celui de  $Pi'_{eau}$ . Cela peut conduire à une surestimation de la valeur E dans l'expérience d'incubation et par conséquent pourrait affecter la valeur de la minéralisation brute du Po dérivée. Surtout, le  $Pi'_{eau}$  est resté constant pour les deux traitements, ce qui suggère que la condition de «la minéralisation basale» a été atteinte. En outre, le taux de respiration est également constant pendant l'étude d'incubation (Figure 1). Le  $Pi_{bic}$  était respectivement 13 fois et 47 fois plus élevé que le  $Pi_{eau}$  pour le traitement non amendé et amendé avec des résidus. Le  $Pi_{bic}$  est dans le même ordre de grandeur que le Pi extractible à l'eau observé dans le sol des prairies ayant reçu de la fertilisation P dans Bünemann et al. (2012) et dans les sols forestiers dans Achat et al. (2009a).

Contrairement à l'augmentation observée dans  $Pi_{eau}$ , l'amendement de résidus a diminué le  $Pi_{bic}$  par rapport au sol non amendé. Cela pourrait être dû à un artefact, puisque des extraits au bicarbonate étaient plus jaunâtres que les extraits à l'eau. Ceci suggère que les extraits au bicarbonate peuvent contenir des composés organiques de P, du P sous forme condensée, tels que des polyphosphates inorganiques et de phosphore associés aux colloïdes inorganiques qui peuvent interférer avec la détermination du Pi avec la méthode au vert de

malachite. La présence de colloïdes et de silicium dans des extraits à l'eau ou au bicarbonate peut causer une interférence positive lors de la colorimétrie (Masson et al., 2001; Hens et Merckx, 2002), conduisant à une surestimation ou une sous-estimation de la concentration de  $Pi$ . Cette interférence peut être minimisée en utilisant un filtre de  $0,025 \mu\text{m}$  ou  $0,2 \mu\text{m}$  au lieu de  $0,45 \mu\text{m}$ , et en éliminant le premier millilitre avant de recueillir le filtrat. Ceci est dû dans le but de saturer les pores du filtre en particules du sol et de réduire la contamination des colloïdes (Sinaj et al., 1998). Même après avoir suivi toutes ces recommandations, nous avons toujours observé des différences entre le sol amendé et le sol non amendé pour le  $Pi_{\text{bic}}$  durant la CEI (Tableau 4). L'effet de la micro agrégation et de la dispersion des particules dans le sol peut aussi affecter les paramètres et les résultats obtenus durant la CEI (Randriamanantsoa et al. 2013). Mais ces arguments seuls ne permettent pas de donner une explication complète de cette tendance à la diminution après l'amendement avec des résidus.

En ce qui concerne la différence entre  $Pi_{\text{bic}}$  et  $Pi'_{\text{bic}}$  dans les deux traitements, une autre explication que celle donnée ci-dessus (interaction des colloïdes) pourrait également être avancée, comme l'utilisation d'agitateurs magnétiques à 300 rpm pendant l'expérience de CEI en vue de bien mélanger la suspension de sol et d'avoir un marquage homogène des échantillons à différents points d'échantillonnage au cours de l'échange isotopique (80 minutes). En revanche, les échantillons pour la détermination de  $Pi$  dans l'étude d'incubation ont été directement filtrés après le 16 h d'équilibration, sans avoir été mélangés avec un agitateur magnétique. Nous avons vérifié ce dernier point pour la méthode au bicarbonate en comparant la concentration de  $Pi$  mesurée directement après équilibration à celle mesurée au bout de 80 minutes sur l'agitateur magnétique comme dans l'expérience de CEI. En effet, nous avons pu voir l'existence d'un facteur de deux de différence pour le  $Pi_{\text{bic}}$  et le  $Pi'_{\text{bic}}$  qui est due à la différence de procédure (données non présentées). L'effet de l'agitation dans la méthode à l'eau n'a pas été vérifié, mais si nous supposons que le  $Pi_{\text{eau}}$  issu de l'expérience d'incubation a été aussi élevé que de l'expérience de CEI, par conséquent, la valeur  $E$  de l'incubation aurait été plus élevée et donc la différence entre les valeurs extrapolées et mesurées aurait été encore plus grande. Pour cette raison, nous ne pensons

pas surestimer la minéralisation brute du Po mesurée dans cette étude. En somme, l'interférence par les colloïdes et l'effet de l'agitateur magnétique explique une grande partie de la variation et le bruit pour la détermination du Pi dans le bicarbonate par rapport à la méthode à l'eau.

Concernant l'AS de la méthode à l'eau qui diminue au fil du temps, cette tendance est en accord avec Oehl et al. (2001) et d'autres études sur la dilution isotopique (Walbridge et al., 1987; Lopez-Hernandez et al., 1998; Bünemann et al., 2007; Achat et al., 2009a). Un résultat comparable a été obtenu par Randhawa et al. (2005), où l'AS dans le sol amendé avec des résidus a été plus faible que dans le sol non amendé. Par contre, l'AS de la méthode au bicarbonate n'a montré aucune tendance temporelle claire. Très probablement, cette tendance est due à des problèmes que nous avons cités précédemment pour la détermination du Pi. En général, l'AS plus faible dans l'extrait au bicarbonate comparé à l'extrait à l'eau (Figure 3) démontre qu'une fraction du P extrait doit être considéré comme du Pi isotopiquement non échangeable (Fardeau et al., 1988; Demaria et al., 2005). Enfin, la méthode au bicarbonate avait une plus grande LD et LQ de la minéralisation brute du Po que la méthode à l'eau (Tableau 4).

Au total, la méthode à l'eau représente une meilleure option que la méthode au bicarbonate pour la détermination de la minéralisation brute du Po dans ce sol à fort pouvoir fixateur pour le Pi, même si la méthode de concentration à l'hexanol est très laborieuse. Toutefois, afin d'éviter les artefacts, il est fortement recommandé d'inclure la procédure de mélange avec l'agitateur magnétique avant la détermination Pi dans les suspensions de l'étude d'incubation. En raison des problèmes avec la méthode au bicarbonate, nous limiterons la suite de la discussion sur les flux bruts de P à la méthode à l'eau.

#### **4.2 Minéralisation brute du Po**

Malgré un apport à bas P par l'amendement des résidus, on observe une augmentation significative de  $Pi_{eau}$  (Tableau 4), mais aussi un changement dans les propriétés d'adsorption. En effet, l'amendement des résidus a affecté les paramètres de la CEI, mais les changements de  $Pi_{eau}$  et de  $m$  ont été pris en compte dans la méthode car la ligne de base est établie

séparément pour chaque traitement. La combinaison de la méthode de concentration à l'hexanol pour la détermination d'une concentration très faible de  $P_i$  avec la technique de dilution isotopique nous a permis d'obtenir une mesure fiable de la concentration de  $P_i$  et des paramètres réalistes pour la détermination des flux bruts de P par minéralisation.

La LD de la minéralisation brute du  $P_o$  déterminée avec la méthode à l'eau ( $0,2 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$ ) était inférieure à celle rapportée par Bünemann et al. (2007) sur cinq sols australiens avec une capacité d'adsorption faible pour le  $P_i$  (entre  $0,6$  et  $2,6 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$ ). La minéralisation brute du  $P_o$  mesurée dans le sol non amendé ( $0,8 \pm 0,5 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$ ) était nettement supérieure à la LD, mais proche de la LQ ( $0,7 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$ ). L'amendement avec des résidus du sol a considérablement augmenté la minéralisation brute du  $P_o$  ( $1,7 \pm 0,2 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$ ) par rapport au sol non amendé. L'amendement avec des résidus apporte au sol  $2 \text{ mg P kg}^{-1}$  de sol, mais la minéralisation brute du  $P_o$  dans le sol amendé était d'environ  $7 \text{ mg P kg}^{-1}$  de sol en 7 jours. La différence pourrait provenir principalement de l'immobilisation microbienne et/ou du turnover du P dans la biomasse microbienne.

Les flux bruts du P mesurés dans cette étude (Tableau 5) sont dans le même ordre que les flux publiés pour différents types et systèmes d'utilisation de sols. Dans un système naturel non perturbé sur des sols en Amérique du Nord, Lopez-Hernandez et al. (1998) ont obtenu un taux de la minéralisation brute du  $P_o$  de  $0,2$  à  $0,9 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$ . Achat et al. (2009a) ont mesuré un taux de  $1,0 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$  sur un sol sableux, avec une faible capacité de sorption pour le  $P_i$ , sous une plantation de pins en France, et Bünemann et al. (2007) ont obtenu un taux similaire dans un Planosol Australien sous une végétation semi-naturelle. Des taux supérieurs de la minéralisation brute du  $P_o$  allant jusqu'à  $2,5 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$  ont été rapportés par Oehl et al. (2004) pour les sols cultivés en Suisse et d'un maximum de  $8,2 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol jour}^{-1}$  par Bünemann et al. (2012) pour un sol de prairie permanente en Suisse.

Par rapport aux autres études sur la minéralisation brute du  $P_o$ , la respiration du sol (Figure 1) a été plutôt faible, surtout dans le sol non amendé ( $1,5 \text{ mg C kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ ), qui était

encore plus faible que le taux ( $3,6 \text{ mg C kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ ) rapporté par Achat et al. (2009a). Avec l'amendement des résidus, la respiration du sol a augmenté à un taux similaire à celui rapporté par Oehl et al. (2004) dans les champs cultivés ( $8,6$  à  $11,0 \text{ mg C kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ ) mais reste inférieure aux taux rapportés par Bünemann et al. (2007, 2012).

Le rapport C:P de la minéralisation basale brute lors de l'expérience d'incubation (14 jours) était respectivement de 12 et 5 pour le sol non amendé et amendé (Tableau 3), tandis que le ratio C:Po du sol était de 152. Oehl et al. (2004) ont observé un C:P similaire au cours de la minéralisation basale brute de 7 à 10, mais avec un ratio C:Po du sol d'environ 37. Pour évaluer la contribution de la ré-minéralisation microbienne dans la minéralisation brute du Po, il serait nécessaire de connaître le rapport C:P de la biomasse microbienne du sol. Malheureusement, nous n'avons pas déterminé le C microbien. Cependant, nous savons que le P microbien est faible (environ  $1 \text{ mg P kg}^{-1}$  de sol) comparé aux valeurs de P microbien dans les sols tropicaux rapportés par Oberson et Joner (2005). Une petite biomasse microbienne pourrait expliquer le faible taux de respiration dans notre étude. En même temps, la grande différence entre le rapport C:Po du sol et de la minéralisation basale brute indique très peu de minéralisation du Po total du sol. Similaire à l'étude de Bünemann et al. (2012), la minéralisation brute du Po dans cette étude a probablement été dominée par l'immobilisation microbienne plutôt que par la minéralisation nette de Po. Malheureusement, nous n'avons pas été en mesure de calculer la minéralisation nette P en raison de la difficulté à évaluer correctement la concentration de P microbien.

Pour la méthode à l'eau, le taux journalier de la minéralisation brute du Po à 7 jours représente 4% et 9% de la quantité du Pi potentiellement phytodisponible ( $E_{1\text{jour}}$ ) dans le sol non amendé et amendé par des résidus, respectivement. L'effet du traitement confirme le rôle bénéfique d'un système de gestion basé sur l'incorporation d'intrants organiques comme les résidus de légumineuses ou de fumier. Cette incorporation peut être déterminant pour augmenter la phytodisponibilité du P et de la production agricole sur des sols fortement dégradés dans les régions tropicales (Nziguheba et al., 2000; Ayaga et al., 2006).

## 5. Conclusions

La combinaison de la méthode de dilution isotopique avec la méthode de concentration hexanol pour la détermination de  $P_i$  dans l'extrait aqueux a été utilisée avec succès pour évaluer la minéralisation basale brute du  $P_o$  dans ce sol tropical. L'approche consistant à utiliser un media avec un plus grand pouvoir d'extraction ( $\text{NaHCO}_3$  0,01 M) ne donne pas de résultats fiables en raison des difficultés de mesure de la concentration  $P_i$  pendant la CEI et de l'incubation. Néanmoins, la méthode au bicarbonate a également montré un flux supérieur dans le sol amendé par les résidus que dans le sol non amendé. Ceci est le premier article évaluant la minéralisation basale brute du  $P_o$  par la technique de dilution isotopique sur un sol tropical avec une grande capacité de sorption pour le  $P_i$  et un très faible P phytodisponible.

## **Chapitre 3**

**Evaluation par la technique isotopique de la quantité de phosphore prélevé par le riz pluvial avec des apports organiques sur un Ferralsol**

## Résumé

Les engrais organiques tels que les résidus de légumineuse et le fumier sont importants pour maintenir la fertilité des sols tropicaux fortement dégradés. Peu d'informations sont disponibles sur le prélèvement de phosphore (P) par les plantes provenant de ces engrais organiques lorsqu'il est appliqué sur des sols à fort pouvoir fixateur vis-à-vis des ions phosphates (Pi). Le prélèvement de P par les engrais des cultures peut être évalué à l'aide de la technique directe et indirecte de marquage isotopique du P ( $^{33}\text{Pi}$ ) dans une étude en serre. La technique de marquage direct (DLT) consiste à ajouter un engrais marqué au  $^{33}\text{Pi}$  dans le sol non marqué, tandis que la technique de marquage indirect (ILT) consiste à ajouter un engrais non marqué à un sol où le P disponible dans le sol a été marqué par  $^{33}\text{Pi}$ . Les objectifs de cette étude sont: (i) de comparer la technique de marquage direct et indirect pour évaluer le coefficient d'utilisation du P ajouté avec les résidus de *Stylosanthes guianensis* (noté par la suite stylo) ou d'engrais minéraux, (ii) d'évaluer le prélèvement du P ajouté par les résidus stylo et le fumier pour l'*Oryza sativa* ( riz pluvial, NERICA 4) dans un sol avec une très faible disponibilité en P et à fort pouvoir fixateur vis-à-vis du Pi et (iii) d'étudier le coefficient d'utilisation des engrais P dans les sols amendés par une extraction par une résine échangeuse d'anions ( $P_{\text{résine}}$ ). On applique DLT et ILT sur quatre traitements comprenant le contrôle OP, les résidus stylo, le P minéral soluble et le fumier (uniquement utilisé pour ILT) dans un essai en pot avec du riz pluvial et en parallèle une étude d'incubation pour étudier l'effet des engrais sur la respiration du sol et de la  $P_{\text{résine}}$ . Le sol utilisé est un Ferralsol avec une faible disponibilité en P et une grande capacité de rétention du Pi.

Des résultats comparables ont été observés en utilisant DLT et ILT pour les résidus stylo et le P minéral dans l'essai en pot et l'étude d'incubation. Ce résultat suggère que l'ILT peut être appliquée au traitement fumier sur lequel il n'était pas possible d'utiliser la DLT, et que les hypothèses de base pour l'application de l'ILT sont remplies sur ce type Ferralsol. Indépendamment de l'engrais ajouté plus de 60% de P prélevé dans la partie aérienne de riz provient de l'engrais ( $P_{\text{dff}_{\text{plante}}}$ ), ce qui suggère une bonne phytodisponibilité de P ajouté par

chaque type d'engrais. Toutefois, en raison d'une faible production de biomasse, le coefficient d'utilisation des engrais P dans la biomasse du riz ( $CUP_{\text{plante}}$ ) était relativement faible (5 à 11% de l'engrais ajouté P). Le plus faible coefficient a été observé dans le fumier car ce traitement a reçu moins d'azote (N) ajouté que dans les deux autres traitements. Un résultat similaire à la partie aérienne du riz a été observé dans le compartiment de P extractible par la résine lors de l'expérience d'incubation pour  $Pdff_{\text{résine}}$  et  $CUP_{\text{résine}}$ . Les proportions de P provenant des engrais dans la plante et dans l'extrait de résine étaient similaires, suggérant que le P extractible par la résine est un bon indicateur du P disponible pour la plante dans ce type de sol.

**Mots-clés:** Ferralsol, technique isotopique, la disponibilité du phosphore, fumier, résidus de légumineuses.

## 1. Introduction

Les Ferralsols représentent 35% des sols de Madagascar (Razafimahatratra, 2011). Ces Ferralsols sont acides avec un grand pouvoir fixateur pour le phosphore (P) en raison d'une forte concentration d'oxyde et d'hydroxydes d'aluminium et de fer (Rabeharisoa, 2004). La faible fertilité des sols des collines appelées «tanety» est une contrainte majeure pour le maintien de la productivité agricole des agroécosystèmes dans les Hautes Terres de Madagascar. Le phosphore et l'azote (N) sont les principaux facteurs limitant. Une gestion durable de ces sols pour augmenter et maintenir les rendements des cultures nécessite une utilisation appropriée des sols, telle qu'une longue jachère, combinée à une gestion intégrée des intrants organiques et inorganiques (Vanlauwe et al., 2010). Cependant, les engrais minéraux ne sont souvent pas à la portée ou ne sont pas disponibles sur le marché pour les petits paysans. Les engrais organiques comme le fumier et les résidus de culture sont les principales sources de nutriments potentiellement accessibles pour ces petits paysans. Mais, la production de fumier est souvent limitée par un nombre limité et une malnutrition du zébu (*Bos indicus*) surtout pendant la saison sèche. Les systèmes à base de légumineuses en rotation ou en association avec le riz pluvial ont été proposés pour apporter plus d'azote par la fixation symbiotique (Douxchamps et al., 2010) et d'améliorer la disponibilité du P grâce à une amélioration du cycle biologique du P (Bünemann et al. 2004c; Oberson et al, 2006). Les engrais organiques contiennent des proportions significatives en P inorganique, par exemple 25% dans le fumier étudiés par Oberson et al. (2010) et 69% dans les résidus de légumineuses analysés par Bünemann et al. (2004b). La quantité restante doit être minéralisée pour être disponible dans la solution du sol et pour les plantes alors que le Pi libéré peut être rapidement adsorbé sur les particules du sol. De même, le manque de synchronie entre la libération des nutriments et la demande en éléments nutritifs par les plantes peut limiter le prélèvement de P à partir de ces intrants par les cultures (Myers et al. 1997). Le coefficient d'utilisation du P des engrais organiques est mal connu dans les sols tropicaux à fort pouvoir fixateur en Pi. Gijsman et al. (1998) ont signalé que l'application répétée de fiente de volailles sur un sol de cendre volcanique de Colombie entraînait une augmentation du rendement des cultures. Ils ont suggéré que l'épandage de la fiente a

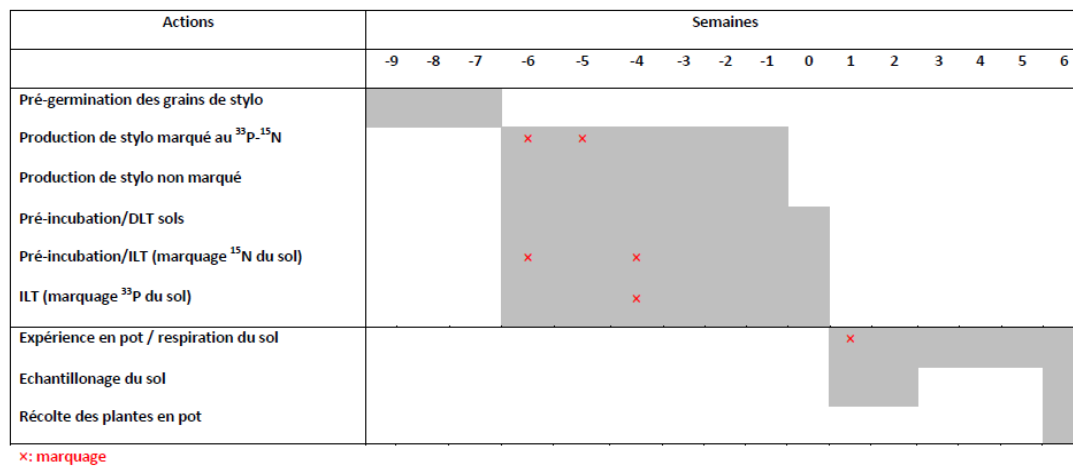
augmenté le P phytodisponible dans ce sol fortement fixateur en améliorant le cycle du P organique (Po) et/ou par le blocage de certains sites d'adsorption du Pi sur les particules de sol. L'efficacité se traduit soit par un effet direct qui consiste à un prélèvement direct par la plante du P provenant des intrants, soit par un effet indirect, comme par exemple, une modification de la phytodisponibilité du sol (Oberson et al., 2011). La quantité de P prélevé par la plante provenant des engrais peut être évaluée par la technique de marquage direct et indirect en utilisant du  $^{33}\text{P}$  (Morel et Fardeau, 1989; Gallet et al., 2003; Oberson et al., 2010; Frossard et al., 2011). La technique de marquage direct (DLT) consiste à marquer le P de l'engrais par du  $^{33}\text{P}$  de sorte à ce que son devenir dans le système sol-plante peut être tracé. La technique de marquage indirect (ILT) est appliquée si les engrais complexes ne peuvent pas être marqués pour des raisons de sécurité ou qu'il est difficile de les marquer de façon homogène ou que la durée nécessaire au marquage est trop longue par rapport à la demi-vie du  $^{33}\text{P}$ . Avec l'ILT, le P phytodisponible dans le sol est marqué et le devenir du P de l'engrais non marqué est suivi par la méthode de dilution isotopique. L'ILT est basée sur l'hypothèse que le P phytodisponible dans le sol peut être marquée de façon homogène et que la composition isotopique du P du sol disponible est identique dans le sol amendé et non amendé. L'utilisation de la DLT pour retracer le devenir de P des engrais à l'aide de  $^{33}\text{P}$  ou  $^{32}\text{P}$  en serre a été testée dans une gamme de sols tropicaux à faible ou forte capacité de rétention pour le Pi (Bünemann et al., 2004b; Bah et al., 2006). Bünemann et al. (2004b) ont étudié l'incorporation du P libéré par les résidus de légumineuse dans les compartiments du P extraits chimiquement sur un Ferralsol du Kenya. Bah et al. (2006) ont quantifié la contribution relative des engrais verts et des engrais minéraux par le prélèvement en P des «Setaria grass» cultivés dans un sol tropical acide amendé par la différence de prélèvement de P du sol amendé et du sol non amendé. Cependant, le prélèvement de P à partir des engrais organiques n'a pas encore été étudié dans un sol tropical avec une très faible disponibilité en P et une forte capacité d'adsorption pour le Pi en utilisant DLT et ILT. Nous avons conçu un essai en pots en utilisant un Ferralsol provenant d'Ivory (Moyen Ouest de Madagascar) avec une combinaison factorielle de trois traitements (contrôle, résidus de stylo et engrais minéral) et deux techniques (DLT et ILT). Un traitement fumier qui ne pouvait être testé qu'avec ILT. Les objectifs de cette étude étaient (i) de comparer DLT et ILT

dans l'évaluation la proportion de P prélevé par le riz provenant des résidus de stylo ou d'engrais minéral, (ii) d'évaluer le prélèvement de P par le riz provenant du fumier et (iii) d'étudier le coefficient d'utilisation du P ajouté par une résine échangeuse d'anions ( $P_{résine}$ ) à différents temps d'incubation du sol.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1 Conception expérimentale de l'essai en serre

Une expérience en pot a été conçue sur un Ferralsol (décrit ci-dessous) en utilisant une combinaison factorielle de trois traitements (contrôle, résidus de stylo et P minéral) et deux techniques (DLT et ILT) avec 4 répétitions. Un traitement supplémentaire a été ajouté pour le fumier en utilisant ILT. La quantité de P ajoutée a été fixée à  $17 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol}$  pour les résidus de stylo, du fumier et du P minéral (traitement fertilisé), respectivement. Le témoin n'a pas reçu d'apport en P et N (contrôle ONOP). Les macro et micronutriments ont été ajoutés dans une solution nutritive sans P et N à des doses indiquées ci-dessous. Les principales activités avant et pendant l'expérience principale sont résumées dans la Figure 1.



**Figure 1.** Calendrier des interventions et marquages de l'essai en serre. DLT = technique de marquage direct, ILT= technique marquage indirect.

## 2.2 Pré-incubation du sol

Les sols ont été échantillonnés en Février 2011 sur les bordures du dispositif expérimental au champ à Ivory (19° 40' S, 46° 24' E, à 900m d'altitude) dans la région du Moyen Ouest de Madagascar. Les caractéristiques du sol sont résumées dans le chapitre 1 (Tableau 1) et ont confirmé que le sol a une très faible disponibilité en P et une grande capacité de d'adsorption en Pi (Randriamanantsoa et al., 2013). Le sol (35 kg) a été séché à l'air, tamisé à 2 mm de diamètre et expédié en Suisse. En mai 2011, le sol a été placé dans un grand conteneur afin d'avoir une bonne homogénéisation de l'échantillon de sol. Puis le sol a été porté à 40% de la capacité de rétention en eau (WHC) en ajoutant de l'eau déminéralisée avec un équivalent respectivement de 19 kg et 14,5 kg de sol sec pour l'ILT et DLT. Ensuite, un équivalent de 1 kg de sol sec a été mis dans un pot (16 pots pour l'ILT et 12 pots pour le DLT) pour l'expérience principale et le reste a été placé dans un sac en plastique fermé pour l'expérience d'incubation (l'équivalent de 3 kg de sol sec pour ILT et 2,5 kg pour DLT). Les pots et sacs en plastique ont été placés dans l'obscurité dans la chambre d'incubation à 25 °C pendant 6 semaines (Figure 1).

## 2.3 Marquages des sols

L'étude a été conçue comme une expérience de double marquage  $^{15}\text{N}$ - $^{33}\text{P}$  pour laquelle les résultats  $^{15}\text{N}$  seront présentés séparément (Zemek, non publié). Douze jours après le début de la pré-incubation, les sols de ILT ont été marqués avec la première moitié de la dose de sulfate d'ammonium (1 mg N kg<sup>-1</sup> sol avec 98 % d'excès atome de  $^{15}\text{N}$ ) et du saccharose (24 mg C kg<sup>-1</sup> sol) afin d'incorporer le traceur dans le compartiment disponible de N du sol et de minimiser le «pool substitution» (Hood, 2001). Les mêmes quantités de sulfate d'ammonium non marqué et le saccharose ont été ajoutés aux sols de DLT. Tous les sols ont été placés de nouveau dans la chambre d'incubation après cette première addition. Dix jours plus tard, la deuxième moitié de sulfate d'ammonium marqué (ILT) ou non marqué (DLT) a été ajouté, cette fois sans saccharose. En même temps, un traceur sans entraîneur  $^{33}\text{P}$ -orthophosphate ( $^{33}\text{Pi}$  pour la suite) avec une activité de 14,6 kBq g<sup>-1</sup> sol (277.5 MBq dans 190 mL) a été ajouté au sol pour ILT. Tous les sols ont été placés à nouveau dans la chambre

d'incubation jusqu'au début de l'essai en pot et de l'expérience d'incubation (24 jours). (Figure 1).

## **2.4 Production des résidus de *Stylosanthes* marqués et non marqués**

Des graines de *Stylosanthes guianensis* (CIAT 184), par la suite appelé stylo, provenant d'Ivory ont été pré-germées dans le sable pendant 4 semaines. Les plantules ont été transférées dans un système hydroponique contenant 22 litres de solution nutritive sans N et P. La liste des éléments dans cette solution nutritive est la suivante (en mg par conteneur): 4333 K; 1411 S; 2200 Ca; 1056 Mg; 2,4 Mn; 0,7 Cu; 2,9 Zn; 1,1 Mo et 6,1 Bo. Cinq conteneurs ont été préparés dont 2 pour la production des stylo marqués et 3 pour la production des stylo non marqués (chacun contenant 48 plantes).

Pour la production de stylo marqué, une quantité de 149 mg P par conteneur a été ajoutée sous forme soluble dans l'eau de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  et  $^{33}\text{P}$  avec une activité de  $4,2 \text{ kBq mL}^{-1}$  ( $92,5 \text{ MBq}$  par conteneur) et une quantité de 1012,5 mg N par conteneur comme la première moitié de la dose sous forme de nitrate d'ammonium marqué ( $^{15}\text{NH}_4^{15}\text{NO}_3$ , 10% d'excès atome de  $^{15}\text{N}$ ) a été ajoutée dans la solution nutritive. La seconde moitié de la dose a été ajoutée 15 jours plus tard après la première addition. Les mêmes quantités et formes de nutriments (sans  $^{15}\text{N}$  en excès et  $^{33}\text{P}$ ) ont été ajoutées dans les conteneurs pour la production de stylo non marqués. Le pH de la solution nutritive a été mesuré chaque semaine dans chaque conteneur pour vérifier la variation du pH qui peut être causée par l'exsudation racinaire de stylo. Le pH de la solution nutritive est stable à  $7,0 \pm 0,3$  pendant le temps de la production. Chaque conteneur a été rempli avec de l'eau déminéralisée à 22 L avec un système d'aération. Les parties aériennes et les racines de stylo ont été récoltées au bout de 6 semaines, séchées à  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  pendant 72 h à l'étuve et coupées en petits morceaux ( $< 1 \text{ mm}$ ). Les résidus marqués et non marqués ont été préparés et stockés séparément pour éviter une contamination croisée. La production totale de matière sèche était de 89,5 g pour la partie aérienne et 15,1 g pour la racine pour les 3 conteneurs non marqués et 51 g pour la partie aérienne et 10,2 g pour la racine pour les 2 conteneurs marqués. Une aliquote des

résidus de stylo (partie aérienne) a été utilisée pour la détermination des concentrations de nutriments et de mesure de l'activité spécifique (kBq  $^{33}\text{P}$ /mg P) (Tableau 1).

**Tableau 1.** Caractéristiques des résidus de stylo et du fumier utilisés dans cette étude. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type, n = 4 répétitions analytiques.

Paramètres	Résidus de stylo <sup>a</sup> (g kg <sup>-1</sup> )	Fumier (g kg <sup>-1</sup> )
N	44,5 $\pm$ 1,8	8,5 $\pm$ 0,5
P	4,4 $\pm$ 0,0	1,5 $\pm$ 0,0
P <sub>résine</sub>	0,1 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,0
C	396 $\pm$ 2	133 $\pm$ 14
Ca	12,0 $\pm$ 0,3	5,2 $\pm$ 0,1
Mg	3,7 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,0
K	33,7 $\pm$ 1,1	3,4 $\pm$ 0,5
C:N	9	15
C:P	90	88
SA en kBq $^{33}\text{P}$ (mgP) <sup>-1</sup> <sup>b</sup>	176 $\pm$ 9	-

<sup>a</sup> les résidus de stylo marqués et non marqués ont le même contenu en nutriment

<sup>b</sup> Activité spécifique du stylo marqué

## 2.5 Essai en pot et expérience d'incubation en utilisant DLT et ILT

Trois et 4 traitements ont été appliqués respectivement, pour DLT (contrôle: ONOP; résidus de stylo et P minéral) et ILT (contrôle: ONOP; résidus de stylo, fumier et P minéral). La quantité de P ajouté aux engrais ont été fixés à 17 mg P kg<sup>-1</sup> sol dans les deux méthodes, ce qui nécessite 3,85 g MS kg<sup>-1</sup> (masse sèche) de résidus de stylo, 10,76 g DM kg<sup>-1</sup> sol de fumier et de 93 mg kg<sup>-1</sup> sol de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pour le P minéral. Par contre, la quantité d'azote ajoutée était de 173 mg N kg<sup>-1</sup> sol pour les résidus de stylo et le P minéral et 92 mg N kg<sup>-1</sup> sol pour le

fumier. La solution de marquage contenant du P sous forme d'engrais soluble a été préparée en ajoutant et en mélangeant bien du  $^{33}\text{P}$  sans entraîneur (91,4 MBq en 53 ml) dans une solution contenant de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pour le traitement P minéral utilisant la DLT. Les engrais ont été ajoutés et mélangés dans le sol pré-incubé. L'expérience en pot a été menée dans une serre spéciale pour le travail avec les radionucléides de l'ETH Zurich à Eschikon (Suisse). Deux jeunes plantules de riz pluvial (*Oriza sativa*, NERICA 4) ont été transférées dans chaque pot. L'humidité du sol a été augmentée à 50% WHC, contrôlée quotidiennement (par pesée) et réajustée avec de l'eau déminéralisée. Les plantes de riz ont été récoltées au stade végétatif de tallage 40 jours après la plantation. En parallèle, le sol de l'étude d'incubation a été conservé dans l'obscurité dans un conteneur en serre comme les pots afin d'avoir les mêmes conditions expérimentales. Le taux de respiration de chaque traitement a été mesuré chaque semaine et les analyses de sol ont été réalisées à 3 points d'échantillonnage (3, 8 et 36 jour après l'addition des engrais) pour déterminer le P phytodisponible dans le sol.

## 2.6 Analyses des sols et des plantes

La respiration du sol a été déterminée par l'incubation des échantillons et par le piégeage du  $\text{CO}_2$  libéré dans  $\text{NaOH}$  0,2 M, suivie par un titrage avec  $\text{HCl}$  0,2 M en présence de  $\text{BaCl}_2$  1,5 M et de phénolphthaléine comme indicateur coloré (Alef, 1995). Le P résine extractible ( $\text{P}_{\text{résine}}$ ) a été extrait par une membrane échangeuse d'anion (BDH no.55164, 6 cm x 2 cm) sous forme de bicarbonate de sodium (Kouno et al., 1995). Les bandes de résine ont été éluées avec une solution de  $\text{NaCl}/\text{HCl}$  0,1 M pendant 30 min et la concentration du  $\text{P}_i$  dans l'extrait a été déterminée par colorimétrie en utilisant la méthode au vert de malachite (van Veldhoven, 1987).

Le P total dans les résidus stylo a été déterminé par incinération de 0,2 g de matière végétale à 550 °C pendant 4 h. Les cendres sont dissoutes dans 2 ml de  $\text{HNO}_3$  15 M et puis le volume de la solution est complété à 100 ml avec de l'eau ultrapure. Le  $\text{P}_i$  dissous dans la solution est ensuite mesuré par colorimétrie par la méthode au vert de malachite (van Veldhoven et Mannaerts, 1987) et le comptage de l'activité restant du  $^{33}\text{P}_i$  avec compteur à scintillation

liquide (TRI-CARB 2500 TR). Les valeurs obtenues sont corrigées à la date du début de l'expérience.

## 2.7 Calcul de la proportion du P prélevé par le riz (partie aérienne) provenant de l'engrais et la proportion de P prélevé par la résine provenant de l'engrais

### 2.7.1 En utilisant la méthode isotopique

Les principes et la dérivation des formules pour calculer P dans la plante provenant de l'engrais ont été présentés par Morel et Fardeau (1989a, 1989b). Par conséquent, nous ne présentons que les formules finales comme proposé ci-dessous (Oberson et al., 2010).

La proportion de P dans la plante qui est dérivé de l'engrais marqué ( $Pdff_{\text{plante}}$ , en %) pour la DLT peuvent être calculées:

$$\%Pdff_{\text{plante}} = 100 \times (AS_{+P}/AS_F) \quad (\text{équation 1})$$

où  $AS_{+P}$  est l'activité spécifique de P dans la partie aérienne de la plante ayant reçu l'engrais phosphaté et  $AS_F$  est l'activité spécifique de P dans l'engrais.

Le  $\%Pdff_{\text{plante}}$  en utilisant un engrais non marqué pour l'ILT peut être déterminé:

$$\%Pdff_{\text{plante}} = 100 \times (1 - AS_{+P}/AS_{0P}) \quad (\text{équation 2})$$

où  $AS_{0P}$  est l'activité spécifique de la partie aérienne de la plante cultivée sans l'engrais phosphaté.

La quantité de P dans la plante provenant de l'engrais phosphaté  $Pdff_{\text{plante}}$  ( $\text{mg P kg}^{-1}$  sol) pour DLT et ILT peut être déduite:

$$Pdff_{\text{plante}} = \%Pdff_{\text{plante}} \times P_{\text{prélevé}} / 100 \quad (\text{équation 3})$$

où  $P_{\text{prélevé}}$  est la quantité totale de P prélevée par la plante ( $\text{mg P kg}^{-1}$  sol).

Le coefficient d'utilisation de l'engrais P par la plante ( $CUP_{\text{plante}}$  en % de l'engrais ajouté) pour DLT et ILT peut être calculé:

$$\text{CUP}_{\text{plante}} = 100 \times \text{Pdff}_{\text{plante}} / \text{P}_{\text{ajouté}} \quad (\text{équation 4})$$

où  $\text{P}_{\text{ajouté}}$  est la quantité totale de P dans l'engrais (17 mg P kg<sup>-1</sup> sol pour chaque type d'engrais).

Le même principe appliqué au P prélevé par la plante s'applique au compartiment du  $\text{P}_{\text{résine}}$  extractible.

### 2.7.2 En utilisant la méthode de différence

Cette méthode consiste à comparer le prélèvement de P par la plante du traitement fertilisé ( $\text{P}_{\text{prélevé +P}}$ ) à celui du contrôle non-fertilisé ( $\text{P}_{\text{prélevé OP}}$ ). La quantité apparente du P prélevé par la plante de riz provenant de l'engrais phosphaté ( $\text{APdff}_{\text{plante}}$ ) en mg P kg<sup>-1</sup> sol et le coefficient d'utilisation apparent du P par la plante de riz ( $\text{ACUP}_{\text{plante}}$ ) en % de l'engrais ajouté peut être déduite par les équations suivantes:

$$\text{APdff}_{\text{plante}} = \text{P}_{\text{prélevé +P}} - \text{P}_{\text{prélevé OP}} \quad (\text{équation 5})$$

$$\text{ACUP}_{\text{plante}} = \text{APdff}_{\text{plante}} / \text{P}_{\text{prélevé +P}} * 100 \quad (\text{équation 6})$$

Le même principe appliqué au P prélevé par la plante s'applique au compartiment du  $\text{P}_{\text{résine}}$  extractible.

## 2.8 Calcul de P provenant du sol et des graines

Le P prélevé par la partie aérienne du riz provenant du sol ( $\text{Pdfs}_{\text{plante}}$ ) peut être corrigé par le teneur en P de la graine de riz. En effet, cette quantité de P provenant de la graine peut diluer l'activité spécifique de la plante en apportant du P non marqué supplémentaire et cette contribution peut avoir une grande importance dans un sol avec une faible phytodisponibilité en P pour plante (Bühler et al., 2003; Pypers et al., 2006).

$$\text{Pdfs}_{\text{plante}} = \text{P}_{\text{prélevé}} - \text{Pdff}_{\text{plante}} - \text{Pdfg} \quad (\text{Equation 7})$$

où Pdfg est la quantité P prélevé par la plante provenant de la réserve en P de la graine. Cette quantité peut être déduite de l'écart entre le  $\text{Pdff}_{\text{plante}}$  obtenu avec DLT et ILT pour le traitement du P minéral (en comparant l'activité spécifique) (Oberson et al., 2010).

La contribution du Pdfg dans cette étude n'est pas pertinente car les graines de riz ne contiennent qu'une faible quantité de P seulement 0,07 mg P kg<sup>-1</sup> (par pot) et aucune différence significative est observée entre le Pdf<sub>f,plante</sub> pour ILT et le Pdf<sub>f,plante</sub> pour DLT pour le traitement P minéral.

Cette contribution de Pdfg n'est pas prise en compte pour le calcul dans le compartiment P du P<sub>résine</sub> extractible car elle ne concerne que le prélèvement de P dans la plante.

## 2.9 Calcul de la valeur L et la proportion de P prélevé comparé à la valeur L

Larsen (1952) a proposé une méthode pour déterminer le P phytodisponible pour la plante dans le sol en faisant pousser de la plante sur un sol marqué avec du <sup>33</sup>Pi. Le principe de la dilution isotopique est appliqué dans cette approche suggère que le sol doit être marqué avec traceur sans entraîneur (<sup>33</sup>Pi ou <sup>32</sup>Pi) et l'engrais est ajouté sous forme non marqué (Fardeau et al., 1996). La quantité de Pi qui est potentiellement prélevable pendant la durée de la croissance de la plante (valeur L en mg P kg<sup>-1</sup> sol) peut être calculé (Larsen, 1952; Frossard et al., 2011).

$$\text{valeur L} = (P_{\text{prélevé}} - \text{Pdfg}) / (r/R) \quad (\text{Équation 8})$$

où r (en Bq kg<sup>-1</sup> sol) est la quantité de P marqué récupéré dans la partie aérienne du riz à la récolte et R (en Bq kg<sup>-1</sup> de sol) est la quantité totale de P marqué dans le sol.

Le comptage final de l'activité est corrigé en utilisant le facteur approprié de la décroissance radioactive dans cette étude.

## 2.10 Statistiques

Les mesures dans la partie aérienne du riz à la fin de l'expérience en pot et dans le compartiment du P<sub>résine</sub> (par exemple le P prélevé par la partie aérienne du riz) ont été analysées par une ANOVA à deux facteurs avec les facteurs : technique, traitement et leur interaction suivie par le test de Student-Newman-Keuls en cas de différence significative à p < 0,05 pour les résidus de stylo et le P minéral. Étant donné que cette interaction était significative pour certaines mesures, une ANOVA simple avec le facteur jours a été effectuée

pour chaque traitement séparément en incluant le traitement du fumier comme il a été mesuré que pour ILT. Une ANOVA simple a également été utilisée pour la comparaison entre la méthode isotopique et la méthode de différence. Toutes les analyses de variance ont été réalisées avec le logiciel SAS 9.2.

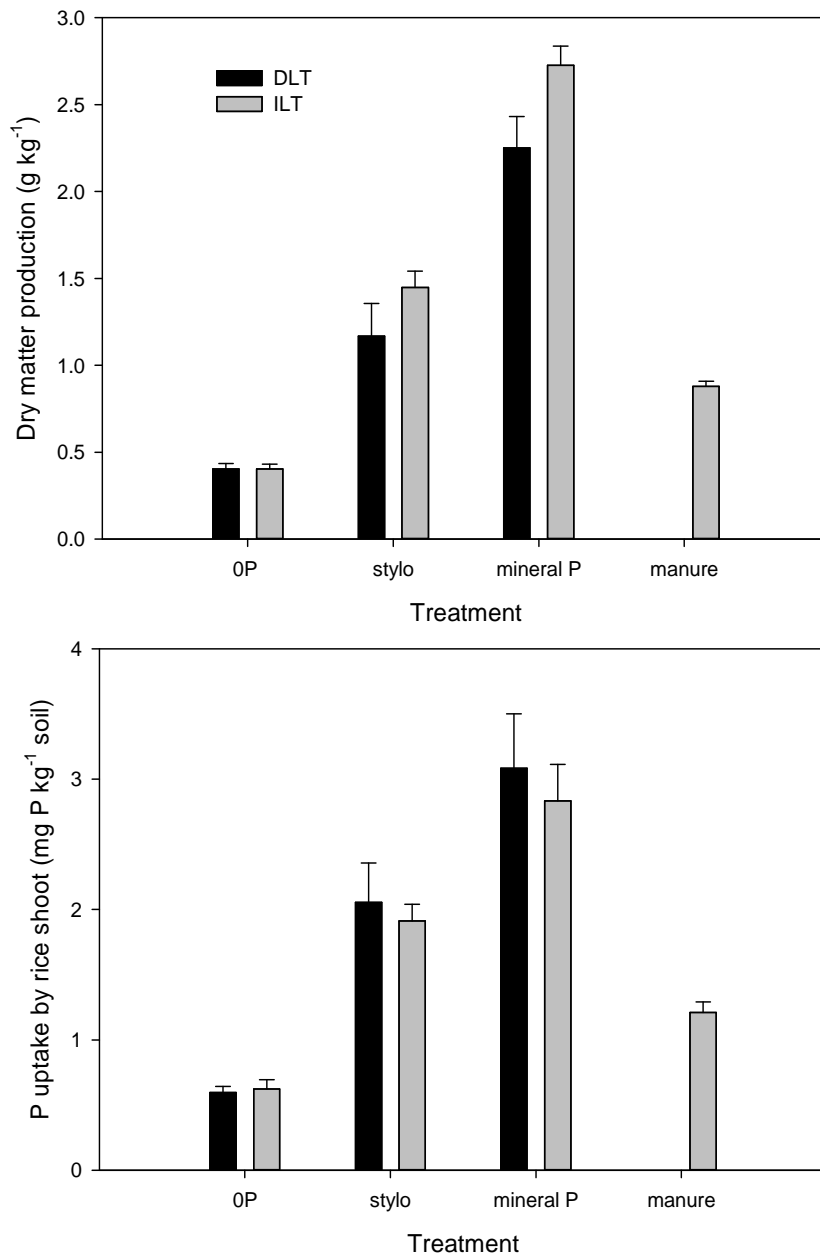
### **3. Résultats et discussion**

#### **3.1 Expérience en pot**

##### *3.1.1 Production de matière sèche et P prélevé par la partie aérienne du riz*

Les engrais phosphatés ont eu un effet significatif sur la production de biomasse aérienne du riz pluvial dans l'essai en pot. L'augmentation suit selon l'ordre suivant: contrôle < fumier < résidus de stylo < P minéral (Tableau 2). Par rapport au contrôle, la production de matière sèche (MS) est respectivement 2 fois, 3 fois et 5 fois plus élevée pour le fumier, les résidus de stylo et le P minéral. Aucune différence significative n'a été observée dans la production de MS entre DLT et ILT. Les engrais P ont eu un effet significatif sur le prélèvement de P par la partie aérienne du riz (Tableau 2). Cette augmentation suit la même tendance que pour la production de MS, car la concentration de P dans la partie aérienne du riz n'a pas été affectée par la fertilisation phosphatée pour le fumier et les résidus de stylo mais par contre diminue significativement dans le traitement P minéral (Tableau 2). Au final, le prélèvement de P le plus élevé est observé dans le traitement P minéral car il a produit plus de biomasse, même si la concentration en P est inférieure dans la partie aérienne du riz. Cette tendance a été attendue car le P minéral est sous une forme de P soluble à l'eau. Un prélèvement plus important dans les résidus de stylo par rapport au fumier indique une plus grande disponibilité en P des résidus de stylo que du fumier, ce qui est contraire à ce que l'on observe d'habitude (Mukuralinda et al., 2009). Dans notre expérience, le fumier a un rapport C:N plus élevé que les résidus de stylo alors que le rapport C:P est similaire (Tableau 1). Les résidus de stylo utilisés sont âgés de six semaines tandis le stylo utilisé en tant qu'engrais vert au champ se développe pendant des mois ou des années (Saito et al., 2006, Naudin et al., 2012). Enfin, nous avons ajouté moins de N dans le traitement du fumier ( $92 \text{ mg N kg}^{-1}$  de

sol) que dans les résidus de stylo ( $173 \text{ mg N kg}^{-1} \text{ sol}$ ), ce qui a sans doute influencé sur le prélèvement de phosphore par la plante comme dans le fumier car le N peut devenir un facteur limitant pour la croissance du riz (Figure 2).



**Figure 2.** La production de matière sèche et le prélèvement de P par la partie aérienne du riz pluvial pour chaque traitement à l'aide de DLT et ILT après 40 jours après le transfert des plantes. Les écarts-types sont présentés avec les barres d'erreurs.

**Tableau 2.** La quantité totale de P prélevé par le riz, la concentration en P du riz et la proportion de P prélevé par la partie aérienne du riz provenant de l'engrais et du sol à 40 jours après le transfert des plantules de riz dans l'expérience en pot en utilisant la technique isotopique. La quantité de P potentiellement disponible pour la plante (valeur L) est également déterminée en utilisant ILT.

Technique	Traitement	P <sub>prélevé</sub>	P conc	Pdff	Pdfs	CUP	Valeur L
		mg P kg <sup>-1</sup> sol	mg kg <sup>-1</sup> MS	%	mg P kg <sup>-1</sup> sol	%	mg P kg <sup>-1</sup> sol
DLT	Contrôle	0,60d	1370cb		0,60b	-	-
	Stylo	2,05b	1480b	66±11	0,72b	8±0	-
	P minéral	3,08a	1250c	57±8	1,36a	10±1	-
ILT	Contrôle	0,62d	1630a		0,62b	-	20,22c
	Stylo	1,96b	1350cb	60±1	0,78b	7±0	50,39b
	P minéral	2,88a	1070d	69±6	0,90b	12±2	66,44a
	Fumier	1,26c	1480b	64±2	0,45b	5±0	56,65b
Niveau de signification (p)							
Technique		0,359	0,709		0,177		-
Traitement		0,000	0,001		0,000		-
Technique * Traitement		0,620	0,000		0,036		-

### 3.1.2 Contribution des engrais phosphatés dans le prélèvement de P par la plante

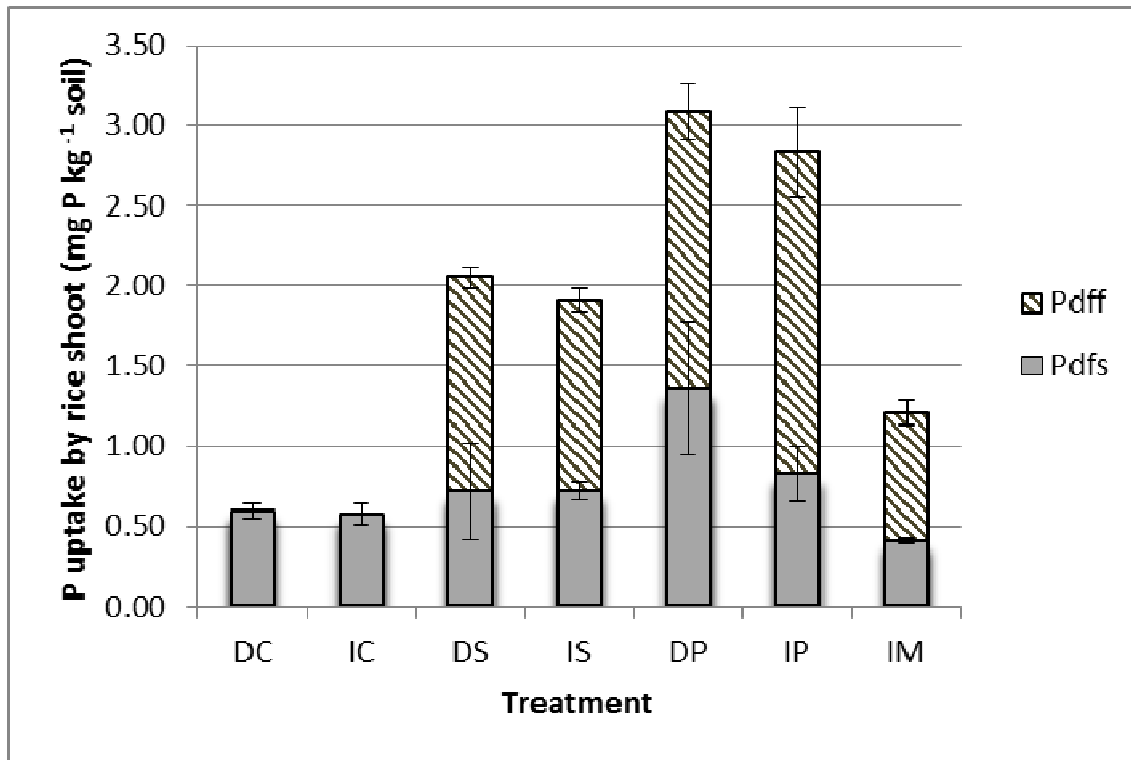
Aucune différence significative n'a été observée entre les traitements pour le %Pdff<sub>plante</sub>. Cela suggère qu'il n'y avait pas de différence de disponibilité en P, mais un autre facteur aurait été déterminé le prélèvement différent de P par la plante, comme la disponibilité en N par exemple. Le traitement a eu un effet significatif sur le Pdff<sub>plante</sub> qui varie de 0,81 à 1,98 mg P kg<sup>-1</sup> sol. La comparaison de la quantité Pdff<sub>plante</sub> a donné des résultats similaires pour DLT et ILT pour les résidus de stylo et le P minéral. Cela suggère que nous pouvons aussi faire confiance sur le résultat de Pdff<sub>plante</sub> obtenu uniquement en utilisant ILT dans le cas du fumier. Il est également important de souligner que la proportion de P prélevé par le riz provenant de l'engrais est d'environ 60% et relativement élevé pour ce type de sol pour tous les traitements (Tableau 2) (Gallet et al., 2003; Oberson et al., 2010 ). Toutefois, en raison du prélèvement de P relativement bas le CUP<sub>plante</sub> est faible, avec 5 à 11% du P ajouté pour tous les traitements dans la partie aérienne du riz (Tableau 2). Le coefficient d'utilisation était le plus faible avec le fumier alors qu'il était le plus élevé avec le P minéral. Oberson et al. (2010) ont observé respectivement un coefficient d'utilisation de 24 à 35% et de 37 à 43% du P ajouté pour le fumier et le P minéral sur 4 récoltes de ray-grass poussant sur un sol arable en Suisse. Alors que notre résultat est en accord avec le coefficient d'utilisation du P observé sur une culture de blé dans un sol en Australie avec un coefficient de 12% dans le P minéral et de 5% dans les résidus de légumes (McLaughlin et al., 1988) et sur un «Setaria grass» qui pousse sur des sols tropicaux acides avec un coefficient de 5% dans le traitement d'engrais vert et de 6 à 37% dans le P minéral (Bah et al., 2012).

Cette faible proportion du CUP<sub>plante</sub> peut être attribuée à (i) l'immobilisation du P se produisant après l'addition du fumier et des résidus de stylo (Zemek, non publié), (ii) l'apport en N du fumier qui est inférieur comparé au P minéral et aux résidus de stylo et (iii) la faible production globale qui est liée au temps croissance du riz (stade végétatif soit 40 jours après la plantation) (Figure 2). La teneur en P dans la graine de riz était autour de 0,07 mg P kg<sup>-1</sup> sol (par pot), qui correspondent à 10% du P prélevé dans le traitement contrôle. L'interaction des graines de P sur le Pdff<sub>plante</sub> peut avoir une grande importance dans ce sol à faible P phytodisponible (Bühler et al, 2003;. Nanzer, 2013). Mais comme, la comparaison du

$Pdff_{\text{plante}}$  du traitement P minéral utilisant deux techniques (DLT et ILT) n'a pas montré de différence significative démontrant que la contribution du P provenant de la graine est faible et pas pertinente dans cette étude.

### *3.1.3 Contribution du sol dans le prélèvement de P par la plante ( $Pdfs_{\text{plante}}$ )*

La quantité de P prélevé par la plante provenant du sol est inférieure à la quantité de P prélevé par la plante provenant des engrais. Aucune différence significative n'a été observée entre la quantité de  $Pdfs_{\text{plante}}$  pour tous les traitements sauf pour le traitement P minéral de la DLT (Tableau 2). Nous avons observé une tendance à l'augmentation du  $Pdfs_{\text{plante}}$  avec addition de P dans les résidus de stylo et le P minéral (Figure 3). Cette augmentation de prélèvement de nutriments du sol à la suite d'un apport d'engrais est connue dans les études de N et Jenkinson et al. (1985) l'appelaient «added nitrogen interaction». Un effet similaire a été rapporté pour P dans une étude avec du fumier par Oberson et al. (2010). L'interaction du P ajouté (added phosphorus interaction) qui augmentait le prélèvement de P provenant du sol montre l'intérêt d'utiliser la méthode isotopique, car il ne peut être démontrée que par le marquage isotopique. L'hypothèse de base de la méthode de différence est que le  $Pdfs_{\text{plante}}$  reste le même dans le contrôle et dans les traitements fertilisés, ce qui dans le cas de P minéral ont donné lieu à une surestimation du  $Pdff_{\text{plante}}$ . De plus, une tendance à la baisse de  $0,17 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol}$  du  $Pdfs_{\text{plante}}$  pour le fumier a été observée par rapport au témoin (Figure 3). Ceci peut être expliqué par l'immobilisation microbienne à la suite d'apport en P du fumier, tel que discuté ci-dessus.



DC = Contrôle DLT et IC = Contrôle ILT, DS = stylo DLT et IS = stylo ILT, DP = P minéral DLT et IP = P minéral ILT, et IM = fumier ILT

**Figure 3.** Répartition du P prélevé par la partie aérienne du riz après 40 jours de croissance des plantes. Pdfd est indiqué en hachuré bande noire (partie supérieure du graphe) et Pdfs est montré en gris (partie inférieure du graphe). Les écarts-types sont présentés avec les barres d'erreurs.

#### 3.1.4 Quantité de $P_i$ potentiellement disponibles pour la plante (valeur L)

Les valeurs L ont augmenté de plus de 2 fois pour les trois traitements fertilisés en P (fumier, résidus de stylo et P minéral) par rapport au témoin non fertilisé (Tableau 2). Ces résultats suggèrent que l'effet de l'engrais sur la phytodisponibilité du P dans le sol est supérieur à l'addition de  $17 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol}$ . Cela confirme l'interaction P ajouté discuté ci-dessus, qui suggère que l'ajout P a augmenté la phytodisponibilité de P du sol. Elle peut être causée par l'effet de la minéralisation microbienne par augmentation du P organique du sol (Kwabiah et al., 2003; Oehl et al., 2004; Randhawa et al., 2005; Bünemann et al., 2012) et/ou par l'effet physico-chimique par désorption du  $P_i$  qui ne sont pas inclus dans l'échange (Singh et Jones,

1976; Iyamuremye et Dick, 1996) et/ou par effet de «priming effect» dans la rhizosphère de la plante (Kuzyakov, 2002; Scheffé et al, 2008). Seulement une petite partie de cette potentielle (valeur L) est vraiment prélevée par la partie aérienne du riz pendant sa croissance et celle-ci représente 2 à 5% de la valeur L pour tous les traitements.

### **3.2 Expérience d'incubation**

#### *3.2.1 Taux de respiration*

La minéralisation du carbone (C) après 38 jours d'incubation est significativement plus élevée pour les résidus stylo suivie par le fumier, le P minéral et le plus bas est pour le traitement témoin (Tableau 3).

Pour les résidus de stylo et le fumier, la quantité de C minéralisé au cours de l'expérience d'incubation par rapport au C ajouté par les résidus stylo et le fumier est respectivement environ 66% et 8% (Tableau 3). Ceci est en accord avec la biomasse microbienne plus importante dans le sol fertilisé avec des résidus de stylo (Zemek, non publié)

Pour les résidus de stylo, la quantité de C ajouté restant dans le sol est seulement de 34%, et probablement en grande partie sous forme de C microbien, comme environ 40% de la consommation C est incorporé dans la biomasse microbienne (Murphy et al., 2003). Cela donne à penser que les résidus de stylo ont été complètement décomposés pendant les six semaines d'incubation, ce qui est en rapport avec l'âge de nos résidus de stylo (jeunes) qui contiennent largement plus C facilement dégradable (Palm et al. 2001). Une durée de dégradation beaucoup plus longue a été signalée dans d'autres études, comme par exemple la dégradation des feuilles et des tiges de la *Canavalia Brasiliensis* dans une condition au champ est respectivement de 8 et 21 semaines (Douxchamps et al., 2010). En revanche, en utilisant la même approche, une grande proportion (82%) du C ajouté est resté dans le sol pour le fumier et cette proportion restante peut être utile pour l'amélioration de la matière organique du sol et pour restaurer la fertilité des sols dégradés (Coleman et al., 1989) et l'effet résiduel de l'engrais peut jouer un grand rôle pour la prochaine culture (Oberson et al., 2010).

Le résultat sur le fumier reflète mieux la situation sur le terrain que les résidus stylo, car le fumier utilisé est celui utilisé dans le dispositif expérimental à Ivory testant l'effet de la fertilisation et l'effet du système gestion du sol et des résidus sur le rendement du riz pluvial. Par contre les stylo sur le terrain ont une croissance de un à deux ans. En conséquence, la qualité et la concentration en éléments nutritifs est beaucoup plus faible que celles du stylo utilisé dans cette étude.

**Tableau 3.** La minéralisation du C et la proportion de C ajoutée consommée au cours de l'expérience d'incubation (38 jours). Les valeurs représentent la moyenne  $\pm$  écart-type,  $n = 4$  pour le fumier et  $n = 8$  pour le contrôle, le stylo et le minéral P.

Traitement	C minéralisé mg C kg <sup>-1</sup>	C ajouté mg C kg <sup>-1</sup>	C consommé %
Contrôle	78 $\pm$ 30	-	-
Stylo	1055 $\pm$ 172	1523	66
P minéral	147 $\pm$ 13	-	-
Fumier	220 $\pm$ 44	1426	8

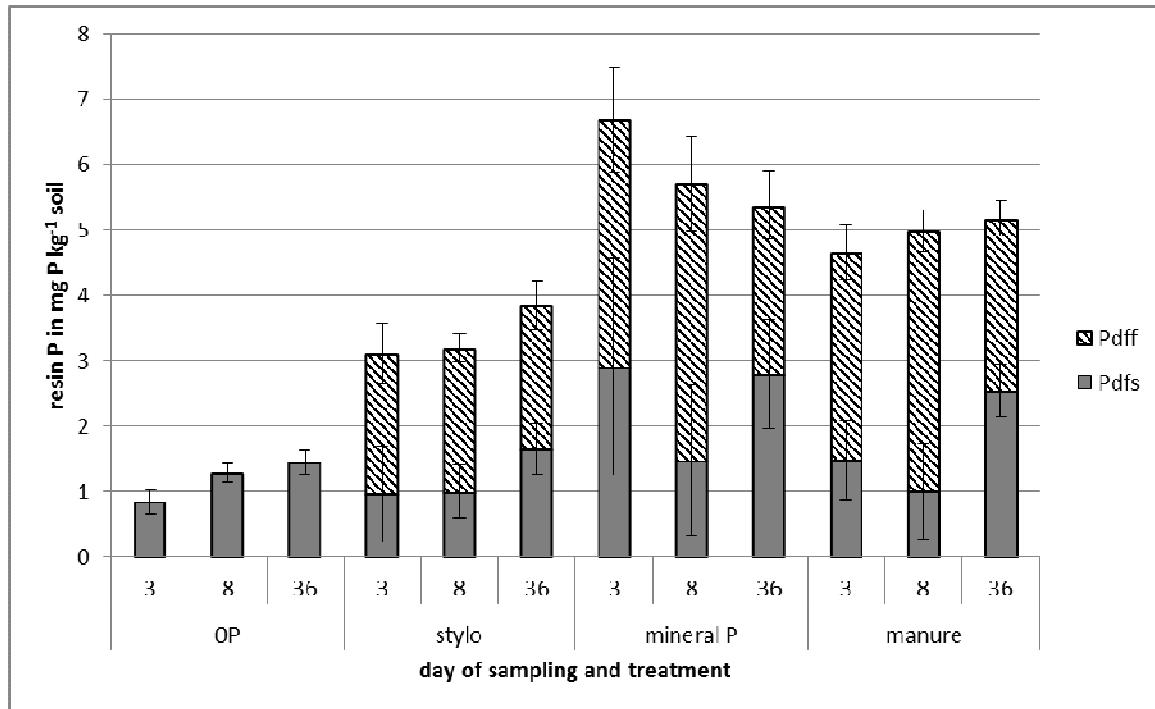
### 3.2.2 Contribution des engrais phosphatés dans le P résine extractible

Le  $P_{\text{résine}}$  extractible est la plus élevée comme prévu dans le traitement P minéral. De même, le fumier et les résidus de stylo ont augmenté le  $P_{\text{résine}}$  plus que sur le traitement témoin (Tableau 4). L'addition du fumier a augmenté plus le  $P_{\text{résine}}$  dans le sol que l'addition des résidus stylo (Tableau 4). Ceci est en accord avec le  $P_{\text{résine}}$  extractible plus élevé dans le fumier que dans les résidus de stylo (Tableau 1). Le  $P_{\text{résine}}$  extractible dans le traitement contrôle est resté constant pour les 3 points d'échantillonnage. En comparaison avec le contrôle, le  $P_{\text{résine}}$  augmente respectivement de 3 à 4, 4 à 5 et 7 à 5 fois pour le stylo, le fumier et le P minéral. Ceci qui indique que l'effet de l'engrais P ajouté dans chaque traitement dépend de la proportion de P phytodisponible de chaque source. Comme le P ajouté dans le traitement P minéral est sous une forme d'engrais soluble à l'eau, même 3

jours après l'addition P, environ 35% de P ajouté a été retrouvé dans le  $P_{résine}$ . Les résines échangeuses d'anions extraient du  $P_i$  de la solution du sol et du  $P_i$  échangeable ainsi que certaines formes de P précipités les plus solubles (Tiessen et Moir, 2007).

Pour le cas du fumier et des résidus de stylo, le P ajouté est présent sous forme  $P_i$  et  $P_o$ . Tout d'abord, un effet direct à la suite de l'application de fumier et des résidus de stylo a induit une augmentation du  $P_{résine}$  extractible considéré comme le P potentiellement disponible pour la plante, mais pas autant que le P minéral. Après, avec le temps que ces P ajoutés vont se transformer lentement par la minéralisation ou la désorption et apportés plus de  $P_i$  dans la solution du sol. Ce qui donne une explication à l'augmentation du  $P_{résine}$  à la fin de l'expérience d'incubation pour ces deux traitements (Iyamuremye et al., 1996; Bünemann, 2003; Nziguheba et Bünemann, 2005). La proportion de P ajouté retrouvée dans le  $P_{résine}$  a augmenté respectivement de 19 à 25% et de 15 à 17% pour le fumier et les résidus de stylo au cours de l'expérience d'incubation.

Aucune différence significative n'a été observée entre le  $Pdff_{résine}$  de DLT et ILT pour les résidus de stylo et le fumier. En ce qui concerne le  $Pdff_{résine}$  du P minéral, il diminue de façon significative au cours des 3 points d'échantillonnage de 83 à 56% (Tableau 4 et Figure 4), ce qui suggère que l'adsorption sur les particules du sol augmente avec le temps dans le traitement P minéral. Pour les résidus de stylo, le  $Pdff_{résine}$  a une légère tendance à l'augmentation, variant de 59 à 77% du  $P_{résine}$ . Pour le fumier, le  $Pdff_{résine}$  a une tendance à l'augmentation avec le temps allant de 45 à 84% du  $P_{résine}$ . Pour tous les traitements, une grande proportion de  $P_i$  dans le compartiment  $P_{résine}$  provient des engrais phosphatés, mais seule une faible proportion du P ajouté est retrouvée dans le compartiment du  $P_{résine}$ . Le  $CUP_{résine}$  varie respectivement entre 13-14%, 19-31% et 15-23% pour les résidus de stylo, le P minéral et le fumier (Tableau 4).



**Figure 4.** Evolution de la quantité de  $P_{résine}$  aux trois points d'échantillonnage (3, 8 et 36 jour) au cours de l'étude d'incubation. Les écarts-types sont présentés avec les barres d'erreurs. Avec  $n = 8$  pour le contrôle, le stylo et le minéral P et  $n = 4$  pour le fumier.

La comparaison du  $\%Pdff_{plante}$  dans la partie aérienne du riz et du  $\%Pdff_{résine}$  au cours des 2 premières dates d'échantillonnage (3 et 8 jours) montre une proportion similaire ce qui suggère une relation étroite entre ces 2 compartiments. Nos résultats suggèrent que le compartiment du  $P_{résine}$  est un bon indicateur du P phytodisponible pour la plante dans ce type de sol à un stade précoce de l'expérience d'incubation (3 et 8 jours). Ceci est en accord avec Maertens et al. (2004) et Pypers et al. (2006) qui ont montré que le  $P_{résine}$  comme un indicateur du sol de P phytodisponible dans un sol à fort pouvoir fixateur vis-à-vis du  $P_i$  et à une faible phytodisponibilité en P.

**Tableau 4.** Evolution de la quantité de  $P_{résine}$  et la quantité et la proportion de P dans le pool de  $P_{résine}$  extractible résine provenant de l'engrais sur les trois points d'échantillonnage ( $3^{iem}$ ,  $8^{iem}$  et  $36^{iem}$ ) au cours de l'expérience d'incubation.

Traitement	Date	$P_{résine}$	Pdff	Pdff	CUP
	jour	mg P kg <sup>-1</sup>	mg P kg <sup>-1</sup>	%	%
Contrôle	3	0,8 g	-	-	-
	8	1,2 g	-	-	-
	36	1,6 g	-	-	-
Stylo	3	3,3 ef	2,1 c	77±13	14±2
	8	3,1ef	2,2 c	76±10	14±1
	36	3,6 def	2,2 c	59±9	13±2
P minéral	3	6,8 a	3,7 a	78±10	31±2
	8	5,8 ab	4,2 a	83±10	28±2
	36	5,8 ab	2,6 bc	56±8	19±2
Fumier	3	4,3 cde	3,1 b	75±12	18±2
	8	4,8 bcd	3,9 a	84±9	23±1
	36	5,7 ab	2,6 bc	45±9	15±4
Niveau de signification (p)					
Jour		0,149	0,000	-	-
Traitement		0,000	0,000	-	-
Jour * Traitement		0,000	0,006	-	-

### 3.3 Comparaison entre la technique isotopique et la méthode des différences

Un résultat comparable de  $Pdff_{plante}$  et  $CUP_{plante}$  entre la méthode isotopique et la méthode de différence a été observé pour les résidus de stylo et fumier, même si une tendance à des valeurs plus élevées est observée pour la méthode de différence. Cependant la méthode de

différence est significativement plus élevée que la méthode isotopique pour le traitement P minéral (Tableau 5). Une observation similaire a également été observée pour  $Pdff_{résine}$  (Tableau 5). La différence entre les deux méthodes apparaît quand on regarde le Pdfs. La méthode de différence suggère que le Pdfs est maintenu constant pour tous les traitements et il devrait être au même niveau que le traitement témoin (OP) tandis que le résultat a montré dans la Figure 3 et la Figure 4 en utilisant la technique isotopique nous permet de voir la différence de certains Pdfs entre les traitements. La technique isotopique permet d'observer le phénomène décrit ci-dessus comme l'interaction P ajouté et également l'immobilisation P dans le cas du fumier. C'est un avantage de l'utilisation de la technique isotopique. Toutefois, les hypothèses de base de dilution isotopique devraient être pleinement respectées (Hood, 2001). L'une d'entre elles est que le P phytodisponible dans le sol doit être marqué de façon homogène et que toute dilution de l'activité spécifique dans la plante fertilisée est uniquement due au prélèvement de P dans les engrais non marqués. Dans notre cas, le marquage du sol pour l'ILT a été fait 25 jours avant l'addition des engrais non marqués afin d'avoir un marquage aussi homogène que possible du P phytodisponible du sol. C'était le temps maximum que nous pouvions nous permettre car le  $^{33}P$  (traceur) utilisé à une demi-vie relativement courte (25,3 jours). En ce qui concerne la deuxième hypothèse, il est réduit au minimum car nous avons vérifié la contribution de graines décrite ci-dessus. Toutefois, une stimulation de la minéralisation du Po du sol (non marqué) induite par addition des engrais pourrait diluer l'activité spécifique dans la plante par le P du sol (Bünemann et al., 2004; Oberson et al., 2010). Comme les résultats du chapitre 2 suggèrent que la minéralisation du Po du sol est d'une importance mineure dans ce sol dégradé mis en culture depuis longtemps avec très peu d'intrants, ce qui suggère que cette erreur est minime.

**Tableau 5.** Comparaison des résultats du Pdf<sub>f</sub> dans la plante et dans le pool P<sub>résine</sub> au 3<sup>em</sup> jour de l'incubation en utilisant la méthode isotopique et la méthode de différence, n = 4 pour le fumier et n = 8 pour le stylo et le minéral P.

Traitement	Pdf <sub>plante</sub> (mg P kg <sup>-1</sup> )		Pdf <sub>résine</sub> (mg P kg <sup>-1</sup> ) au 3 <sup>em</sup> jour	
	isotopique	différence	isotopique	différence
Stylo	1,3 a	1,4 a	2,1 a	2,3 a
P minéral	1,8 b	2,4 a	3,8 b	5,8 a
Fumier	0,8 a	0,6 a	3,2 a	3,4 a

Pour une ligne donnée, les lettres différentes indiquent une différence significative entre la méthode isotopique et la méthode de différence dans chaque pool à p < 0,05

#### 4. Conclusion

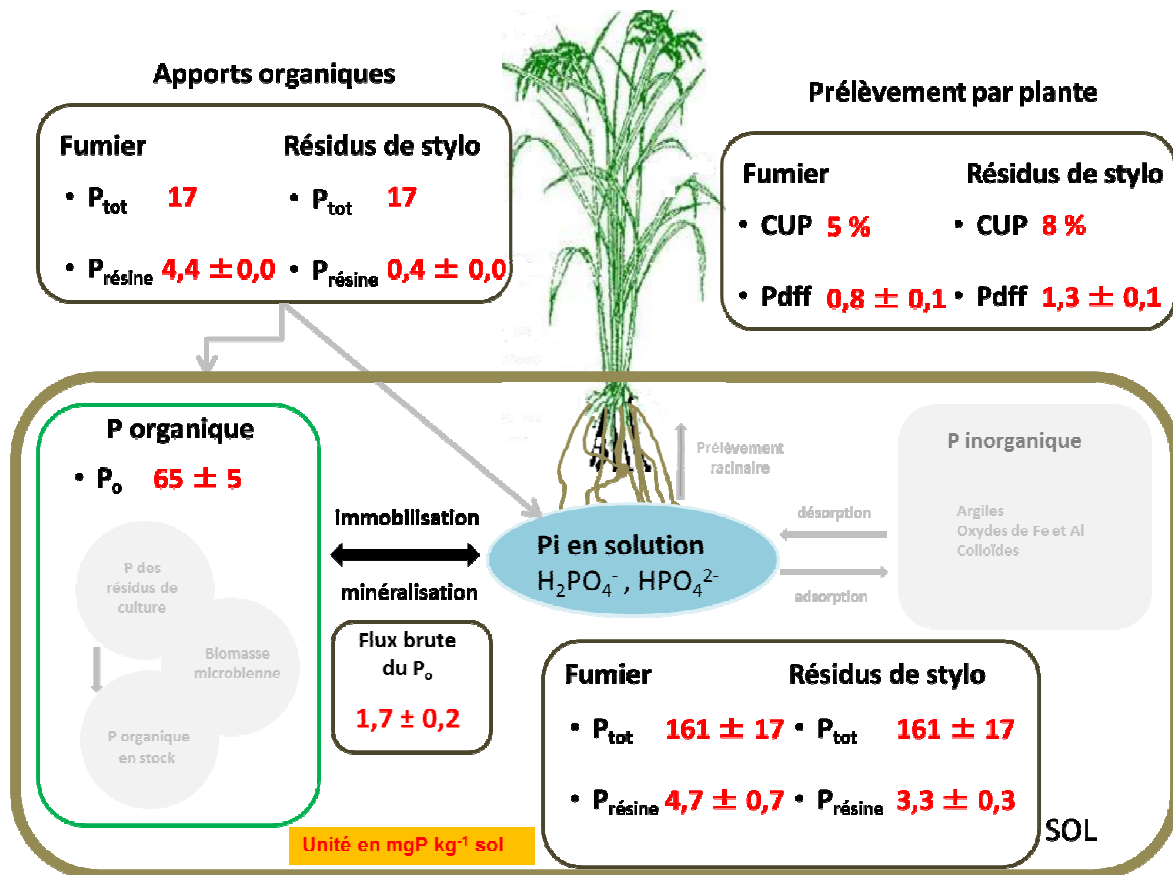
Des résultats comparables sur le Pdf<sub>f</sub> et le CUP ont été obtenus en utilisant DLT et ILT pour les résidus de stylo et le P minéral dans l'essai en pot et l'expérience d'incubation. Cela nous suggère qu'on peut faire confiance aux résultats obtenus en utilisant l'ILT pour le traitement fumier dans lequel il n'est pas possible d'utiliser la DLT dans un sol à faible phytodisponibilité en P bas et avec une grande capacité de du Pi comme la plupart des sols dans la région du Moyen Ouest de Madagascar. Vraisemblablement, une faible minéralisation du Po explique la bonne concordance entre ILT et DLT. Également un Pdf<sub>plante</sub> du riz de plus de 60% pour chaque traitement suggère que chacun d'eux contient du P sous une forme bien disponible. Même si le CUP<sub>plante</sub> est relativement faible de 5 à 11%. Le CUP des résidus de stylo ne peut pas être extrapolé au champ parce que nous avons utilisé un matériel jeune en raison du marquage au <sup>33</sup>P. En revanche, le résultat sur le fumier et le traitement P minéral a une pertinence plus pratique et peut être utilisé pour l'extrapolation ou de comparaison sur le terrain.

## **Discussion générale, conclusion et perspectives**

L'objectif général de cette étude est d'évaluer l'effet d'apports des résidus de légumineuse et du fumier sur la phytodisponibilité du phosphore organique du sol d'un Ferralsol du Moyen Ouest de Madagascar.

Dans le premier chapitre, nous avons pu confirmer et voir les conditions et les limites d'utilisation de la méthode de cinétique d'échange isotopique sur des sols avec une faible disponibilité en P et un pouvoir fixateur élevé vis-à-vis du  $P_i$ . C'était une étape méthodologique déterminante pour la quantification de la minéralisation basale du  $P_o$  utilisant la méthode isotopique. Dans le deuxième chapitre, nous avons pu mesurer, en utilisant la méthode isotopique, la minéralisation basale brute du  $P_o$  sur des sols amendés avec des résidus de stylo et non amendés. La proportion du  $P_o$  sur ce sol est de  $65 \text{ mg P kg}^{-1}$  (40% du P total) (Figure 1). Le taux de la minéralisation brute est relativement faible mais mesurable. Et dans le troisième chapitre nous avons mesuré avec succès l'efficacité des engrais organiques (résidus de stylo et fumier) sur le même type de sol avec comme plante modèle le riz pluvial en utilisant la méthode isotopique. Notre étude était plus focalisée sur une mise au point méthodologique. Mais c'est un prérequis indispensable pour la compréhension de la dynamique du P dans un système basé sur des apports d'engrais organiques sur ce type de sol.

En somme, nous avons pu voir en condition contrôlée que si on apporte une quantité de  $17 \text{ mg P kg}^{-1}$  sous forme d'apports organiques (fumier ou de résidus de stylo), seulement une petite fraction de cette quantité est réellement prélevée par la plante. Cette proportion est respectivement de l'ordre de  $0,8 \text{ mg P kg}^{-1}$  (5% du P ajouté) et de  $1,3 \text{ mg P kg}^{-1}$  (8% du P ajouté) pour le traitement fumier et résidus de stylo (Figure 1). Le reste (plus de 90% du P ajouté) est resté et réparti dans les différents compartiments du P dans le sol. En ce qui concerne le  $P_{\text{résine}}$  qui représente le P phytodisponible dans le sol mesuré à partir d'une résine échangeuse d'anion. Une différence significative est observée entre le  $P_{\text{résine}}$  du traitement fumier qui est plus élevé que du traitement résidus de stylo alors que le stock total du phosphore total dans le sol reste inchanger pour les 2 traitements (Figure 1). Cette différence s'explique en partie par la différence en phytodisponibilité du fumier et des résidus de stylo apportés (Figure 1).



**Figure 1.** Modèle conceptuel d'un système sol-plante basé sur un essai en pot avec des apports organiques. Le flux et la taille de chaque compartiment sont exprimés respectivement en  $mg\ P\ kg^{-1}\ jour^{-1}$  et  $mg\ P\ kg^{-1}$ .

Nous avons pu déterminer lors d'une expérience d'incubation un flux de la minéralisation brute du  $P_o$  de  $1,7\ mg\ P\ kg^{-1}\ jour^{-1}$  après un apport de résidus de stylo provenant de l'essai au champ (emmenant  $2,2\ mg\ P\ kg^{-1}$ ) de qualité très différente comparée à celle utilisée dans l'essai en pot (Figure 1). Nous avons pu montrer l'effet bénéfique de l'incorporation de résidus de stylo sur cette minéralisation brute du  $P_o$ . Par contre, la détermination du flux de minéralisation nette du  $P_o$  sur ce type de sol s'avère indispensable car c'est le flux susceptible d'alimenter réellement en  $P_i$  la solution du sol et entrainera par la suite à une

augmentation de la phytodisponibilité du P dans la solution du sol provenant de la minéralisation du Po .

Dans cette partie nous allons regarder d'un point de vue global sur les impacts que pourraient avoir cette étude dans la pratique que ce soit en condition contrôlée au champ ou sur les parcelles paysannes.

### **Les apports de fertilisations organiques sur la phytodisponibilité du phosphore**

A travers les expériences de cinétique de dilution isotopique menées sur les traitements fertilisés du dispositif expérimental à Ivory (chapitre 1), nous avons pu voir une tendance à l'augmentation sous l'effet d'un apport de fumier équivalent en masse sèche de  $5 \text{ t ha}^{-1}$  ( $8 \text{ kg P ha}^{-1}$ ) du  $\text{P}_i$  dans la solution du sol et du rendement en riz par rapport au traitement témoin. Les échantillons analysés ici ont été collectés après la récolte du riz pluvial dans le dispositif expérimental à Ivory à la fin de la première saison culturale 2010-2011. Cette augmentation peut s'expliquer par une diminution de l'adsorption du P et augmentation de la désorption P comme l'ajout de la matière organique pourrait avoir déclenché la libération de composés organiques (comme les acides organiques de faible poids moléculaire) qui ont été en mesure de rivaliser avec le  $\text{P}_i$  vers les sites d'adsorption et/ou d'augmenter l'électronégativité de surface des particules du sol pour le maintien de la concentration du  $\text{P}_i$  à un niveau supérieur par rapport au témoin, comme décrite par exemple par Gaume et al. (2000). Aussi, l'incorporation des résidus de stylo a entraîné une augmentation du  $\text{P}_i$  dans la solution du sol et par conséquent aussi de la minéralisation brute du Po par rapport à un sol non amendé (témoin) avec un apport en matière sèche équivalent à  $10 \text{ t ha}^{-1}$  (emmenant seulement  $2,2 \text{ mg P kg}^{-1} \text{ sol}$ ) (chapitre 2) (Figure 1). Mais cette augmentation de la minéralisation brute du Po aurait été probablement dominée par l'immobilisation microbienne et sûrement le turnover du  $\text{P}_i$  dans la biomasse microbienne que par la minéralisation nette du Po (Bünemann et al., 2012). En plus, une bonne phytodisponibilité du P des engrais organiques est aussi observée car plus de la moitié (60%) du P prélevé par la plante (riz pluvial) provient de ces engrais lors de l'essai en pot (chapitre 3). Mais par contre à cause d'une production faible de biomasse aérienne le coefficient d'utilisation de l'engrais est relativement bas (5 à 8%) (Figure 1). Tous ces indicateurs démontrent le potentiel que

pourrait avoir un système basé sur une incorporation des matières organiques pour l'augmentation la phytodisponibilité du P et de la production agricole dans les sols tropicaux (Nziguheba et al., 2000; Ayaga et al., 2006). Mais cette augmentation n'est pas encore suffisante pour augmenter suffisamment le  $P_i$  phytodisponible dans ce type de sol car la valeur du  $P_i$  isotopiquement échangeable en une minute ( $E_{1\text{minute}}$ ) est encore largement inférieure à la valeur seuil de  $5 \text{ mg P kg}^{-1}$  en vertu de laquelle les cultures ont été censées répondre à la fertilisation en P (Gallet et al., 2003).

### **L'effet des fertilisations organiques sur la restauration de la fertilité des sols dégradés**

Dans une situation où le phosphore total dans le sol est relativement faible et que la proportion de  $P_o$  dans le P total est assez élevée comme dans le cas de notre région d'étude, l'intervention sur les processus biologique et biochimique peut être très importante pour augmenter la disponibilité du P des cultures dans les sols tropicaux, spécialement ceux qui ont reçu des apports organiques comme source majeur de nutriment (Nziguheba et Bünnemann, 2005 ; Oberson et Joner, 2005). Dans cette étude, le P total du sol est relativement faible de l'ordre de  $161 \text{ mg P kg}^{-1}$  sol dont 40% est sous forme organique ( $65 \text{ mg P kg}^{-1}$  sol) (Figure 1). Avec une seule application de résidus de stylo, nous avons pu observer une légère augmentation de la minéralisation brute du  $P_o$  dans ce Ferralsol (chapitre 2). Une application répétée de ce genre d'apports pourra avoir une augmentation conséquente sur la quantité du  $P_o$  dans le sol et par la suite pourra induire plus la minéralisation de ce  $P_o$  pour alimenter en  $P_i$  dans la solution de sol comme ce qui a été proposé par Randhawa et al. (2005). En plus, il a été suggéré que la minéralisation basale du  $P_o$  serait probablement plus importante sur un sol tropical que sur un sol tempéré identique car la minéralisation du  $P_o$  est étroitement lié au turnover du C qui est plus important sous une condition tropicale que tempérée (Tiessen and Shang, 1998). Aussi nous avons observé un faible coefficient d'utilisation du P dans le traitement fumier (chapitre 3) et une bonne partie du C ajouté est restée dans le sol et pourra augmenter la matière organique du sol et en même temps entrainera une restauration de la fertilité des sols dégradés (Coleman et al., 1989). L'effet résiduel du P apporté par l'engrais organique a un effet important aussi pour la prochaine culture dans le traitement fumier (9 à 15% du P ajouté) (Oberson et al., 2010). Il

est intéressant de suivre l'évolution de ce flux de la minéralisation en combinant l'effet du système de gestion du sol (par exemple l'agriculture de conservation vs l'agriculture conventionnelle) et l'effet de la fertilisation sur un dispositif expérimental de longue durée, mais malheureusement la rareté de ce genre de dispositif expérimental dans les régions tropicales est une limitation sérieuse d'une meilleure compréhension de la dynamique du Po (Nziguheba et Bünemann, 2005).

Il faut quand même être prudent dans ce genre de système car l'addition d'une grande quantité de résidus de stylo ou de culture avec un rapport C:N élevé peut conduire à une immobilisation temporaire nette de N minéral dans le sol, comme conséquence directe, les paysans qui n'ont pas accès aux engrais minéraux ne peuvent pas compenser cette insuffisance en N et subiront une réduction de leurs rendements (Giller et al., 2009). Toutefois, une application répétée de ces résidus de légumes ou de cultures va emmener plus de C dans le sol avec le temps, et une fois que l'équilibre est de nouveau atteint cela peut conduire à une plus grande minéralisation nette de N (Erenstein, 2002).

Comme pour le traitement avec des résidus de légumineuse ne recyclent que le phosphore à l'intérieure même de la parcelle. Dans le meilleur des cas, la légumineuse peut mobiliser du P qui ne serait pas disponible pour le riz, par exemple, par les effets de la rhizosphère ou un enracinement profond. Mais il n'y a pas d'entrée nette en P dans l'exploitation. Il en est de même pour le cas du traitement fumier car il n'y a que du recyclage du P à l'intérieur de la ferme ou de l'exploitation, même si souvent les animaux peuvent pâturer aussi sur les terrains mis en jachères. Encore une fois il n'y a pas une entrée nette dans le système. Dans le souci d'une gestion durable du système et la restauration de la fertilité de ces sols dégradés, la question qu'on peut se poser est de savoir la limite de ce type de système sur le long terme.

### **Utilisation pratique sur le dispositif expérimental installé en 2010 à Ivory**

En rappel, nous voulons suivre la dynamique du phosphore et de l'azote dans le contexte de l'agriculture de conservation en intégrant une plante légumineuse (stylo) dans la rotation

avec le riz pluvial dans le dispositif expérimental à Ivory. La rotation culturale est comme suit: (i) la première année, le riz pluvial a été installé en association avec le stylo (2010-2011), (ii) la deuxième année, le stylo est laissé en jachère pendant une saison (2011-2012), et (iii) la troisième année, le riz pluvial va être installé sur les résidus de stylo. Les 2 facteurs testés sont le système de gestion (agriculture de conservation vs agriculture conventionnelle) et le traitement (témoin, fumier comme engrais organique et engrais minéral).

Le résultat de notre étude trouve son application dans ce dispositif expérimental. Comme décrit précédemment les sols de la première saison ont été utilisés pour suivre la phytodisponibilité du  $P_i$  dans chaque traitement avec la méthode isotopique (chapitre 1). Le traitement a eu un effet significatif sur le rendement en grains de riz lors de la première saison. Le rendement en grains de riz est de l'ordre de  $3,6 \text{ t ha}^{-1}$  pour le P minéral,  $2,8 \text{ t ha}^{-1}$  pour le fumier et  $2,0 \text{ t ha}^{-1}$  pour le contrôle. Le P phytodisponible ( $P_{\text{résine}}$ ) moyen mesuré mensuellement au champ pendant la durée de culture du riz suit la même tendance que le rendement. Le P résine est de l'ordre de  $2,5 \text{ mg P kg}^{-1}$  pour le P minéral,  $1,5 \text{ mg P kg}^{-1}$  pour le fumier et  $1,0 \text{ mg P kg}^{-1}$  pour le contrôle. Après la récolte, nous avons collecté des échantillons de sol pour mesurer le P phytodisponible avec la méthode isotopique. La quantité de  $P_i$  isotopiquement échangeable en 1 minute a eu un effet significatif sur le traitement mais c'est encore en dessous de la limite en vertu de laquelle les cultures ont été censées répondre à la fertilisation en P (Gallet et al., 2003). Le fumier utilisé dans l'essai en pot est identique à celui qui est utilisé dans le dispositif à Ivory (chapitre 2). Le coefficient d'utilisation du fumier relativement bas peut suggérer l'importance de l'effet résiduel comme ce qui est décrit auparavant. En effet, cet effet résiduel a été plus élevé pour le traitement fumier ( $8 \text{ t ha}^{-1}$ ) comparé au traitement témoin et P minéral ( $6 \text{ t ha}^{-1}$ ) sur la production de biomasse du stylo ayant poussé en jachère pendant une année après la récolte du riz pluvial (Zemek, non publié). Le stylo ayant poussé dans le traitement fumier a pu bénéficier d'une meilleure disponibilité en P et cette observation confirme les résultats du chapitre 1 et 3. Mais cet effet a besoin d'être testé pour tous les traitements car même si le P prélevé par la plante dans le cas du traitement P minéral est beaucoup plus élevé comparé

au traitement fumier, il y aura quand même du P qui reste dans le système, donc il se peut qu'il y a aussi un effet résiduel pour les autres traitements que le fumier. L'incorporation des résidus de stylo va être testée sur le dispositif cette saison. L'effet de l'incorporation des résidus dans le système en agriculture de conservation sur la phytodisponibilité du P est plus large que ce que nous avons mesuré (chapitre 2). Par contre, en plus de l'effet de la partie aérienne des résidus, nous avons l'effet combiné de l'acidification de la rhizosphère par le précédent stylo (Tang et al., 2004 ; Yang et Yan., 1998 ; Du et al., 2009), l'effet de la faune du sol comme les termites (Tian., 1998 ; Lopez-Hernandez et al. 1989) et l'effet de la minéralisation de la biomasse racinaire (Gijsman et al., 1997). L'effet combiné de ces effets doit se refléter sur la phytodisponibilité du P du sol dans chaque traitement dans l'essai avec l'effet croisé du système de gestion du sol et de la fertilisation phosphatée. Comme ces échantillons ne seront disponibles qu'à la fin de cette saison culturale. Le P phytodisponible ainsi que les bilans en P de différents traitements seront traités et analysés. En plus, les bilans en P sur les couples de parcelle paysanne suivies dans le WP1 seront aussi déterminés. Ces paramètres nous permettront d'établir les entrées et les sorties en P qui doivent être en balance sur le long terme dans un système de gestion durable en agriculture pour éviter un épuisement des stocks du P dans le sol (Oberson et al., 2006).

## **Conclusion**

L'approche méthodologique qui consistait à l'utilisation de la méthode isotopique pour quantifier la minéralisation du  $P_o$  dans le sol et pour évaluer l'efficacité agronomique d'un engrais organique a été utilisée pour la première fois avec succès sur un Ferralsol à très faible phytodisponibilité en P et à un fort pouvoir fixateur vis-à-vis du  $P_i$ . Nous avons pu vérifier que l'application des expériences de cinétique d'échange isotopique basées sur le principe de la dilution isotopique peut être généralisée sur les sols tropicaux grâce à la méthode de concentration à l'hexanol qui nous permet de mesurer une concentration en  $P_i$  en solution de l'ordre de  $1 \mu\text{g P L}^{-1}$ . Avec cette méthode la difficulté liée à la détermination du  $P_i$  a été résolue sur ce type de sol. Nous avons pu aussi confirmer que le traceur ( $^{33}\text{P}_i$ ) et l'élément tracé ( $^{31}\text{P}_i$ ) avaient un même comportement lors des expériences de cinétique d'échange isotopique qui est une des hypothèses de base de la dilution isotopique.

L'effet de l'apport de résidus de stylo se reflète directement sur une augmentation de la minéralisation brute du Po. Le taux de la minéralisation brute du Po ne représente que 4% et 9% du Pi isotopiquement échangeable correspondant sur des sols non amendé et amendé avec des résidus de stylo. Ce flux est faible mais il sera intéressant de comparer sur un essai de longue durée le taux de la minéralisation du Po sur un traitement ayant reçu régulièrement des résidus de cultures comparé à un traitement témoin.

L'utilisation de la méthode isotopique est indispensable car elle permet de déterminer le coefficient d'utilisation de l'engrais phosphaté et la proportion de P prélevé par la plante provenant de l'engrais, mais en plus elle permet aussi d'observer le phénomène de l'interaction P ajouté («added P interaction») et de l'immobilisation du P comme dans le cas du fumier. Concernant l'évaluation de l'efficacité de l'engrais par la méthode de marquage isotopique, nous avons pu confirmer que la méthode de marquage indirect seulement permet d'avoir un résultat fiable. Vue la grande diversité de plante de couverture et la grande variabilité des engrais de ferme dans notre région d'étude cette technique trouve sa place dans l'élaboration d'une banque de donnée sur l'efficacité de ces plantes de couverture et ces fumiers.

Comme les apports organiques ne correspondent pas à "une entrée nette dans le système", mais qu'il ne s'agit que de transfert de fertilité entre les parcelles d'une exploitation. L'apport de fertilisant phosphatés, dans ces sols relativement pauvre en P et surtout très fortement fixateur, restent une alternative majeure, en association avec d'autres pratiques agro écologiques, pour améliorer la disponibilité du P et améliorer les rendements.

## **Perspectives**

Sur le court terme :

Nous allons déterminer et établir les bilans pluriannuels de P ainsi que la phytodisponibilité du Pi dans les traitements de l'essai à Ivory et sur les parcelles paysannes pour compléter la compréhension de la dynamique du P dans ce système intégrant une plante légumineuse comme plante de couverture et fourrage.

Sur le moyen et le long terme :

Nous allons essayer d'établir une base de données sur l'efficacité des engrais organiques (fumier, plante de couverture et résidus de cultures) en utilisant la méthode de marquage isotopique indirect pour une meilleure compréhension de la disponibilité de ces sources.

Nous allons trouver une situation au champ où nous pouvons appliquer la méthode isotopique pour la quantification de la minéralisation nette du Po sur le même type de sol.

Nous pouvons aussi quantifier la contribution de cet effet résiduel des engrais phosphatés pour la prochaine culture avec la méthode isotopique ou la méthode de différence au champ.

## Références bibliographiques

- Achat, D.L., Bakker, M.R., Morel, C., 2009a. Process-based assessment of phosphorus availability in a low phosphorus sorbing forest soil using isotopic dilution methods. *Soil Science Society of America Journal* 73: 2131-2142.
- Achat, D.L., Bakker, M.R., Augusto, L., Saur, E., Dousseron, L., Morel, C., 2009b. Evaluation of the phosphorus status of P-deficient podzols in temperate pine stands: combining isotopic dilution and extraction methods. *Biogeochemistry* 92: 183-200.
- Alef, K., 1995. Soil respiration. In: Alef, K., Nannipieri, P. (Eds.), *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, London, pp. 214-219.
- AFNOR NF EN 1189, 1997. Qualité de l'eau. Dosage du phosphore. Dosage spectrométrique à l'aide du molybdate d'ammonium. Indice de classement : T 90-023.
- Al-Masri, M.S., 1996. Cerenkov counting technique. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 207: 205-213.
- Anderson, J.M., Ingram, J.S.I., 1993. *Tropical soil biology and fertility. A handbook of methods*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
- Andriamahady, R., 1980. *Méthodologie comparée d'analyses du phosphore du sol. Application à un essai de fertilisation. Mémoire de DEA, option Agronomie. Université de Madagascar*. 69 p.
- Andriamananjara, A., 2011. *Système de culture à rotation Vouandzou - Riz Pluvial (ORYZA SATIVA) sur les Hautes Terres de Madagascar. Rôle du Vouandzou (VIGNA SUBTERRANEA) sur la phytodisponibilité du phosphore dans les ferralsols. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Université d'Antananarivo - Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques (ESSA) de Madagascar*. 186 p.
- Andriamaniraka, J.H., 2009. *Etude et modélisation de la phytodisponibilité du phosphore dans un sol cultivé de Madagascar en fonction des pratiques culturales.*, Agriculture. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Antananarivo, p. 170.
- Anonymous, 1987. Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. *Analyst* 112: 199-204.
- Aubin, J., Tocqueville, A., Kaushik, S.J., 2011. Characterisation of waste output from flow-through trout farms in France: comparison of nutrient mass-balance modelling and hydrological methods. *Aquatic Living Resources* 24(01): 63-70.
- Ayaga, G., Todd, A., Brookes, P.C., 2006. Enhanced biological cycling of phosphorus increases its availability to crops in low-input sub-Saharan farming systems. *Soil Biology & Biochemistry* 38, 81-90.
- Bah, A.R., Zaharah, A.R., Hussin, A., 2006. Phosphorus uptake from green manures and phosphate fertilizers applied in an acid tropical soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 37, 2077-2093.
- Barrow, N.J., 1978. Description of phosphate adsorption curves. *J. Soil Sci.* 29: 447-462.
- Barrow, N.J., 1983. A mechanistic model for describing the sorption and desorption of phosphate by soil. *Journal of Soil Science* 34: 733-750.

- Bowman, R.A., Moir, J.O., 1993. Basic EDTA as an extractant for soil organic phosphorus. *Soil Science Society of America Journal* 57: 1516-1518.
- Brookes, P.C. 1982. Correction for seed-phosphorus effects in L-value determinations. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 33:329-335. DOI:10.1002/jsfa.2740330405.
- Bühler, S., Oberson, A., Sinaj, S., Friesen, D.K., Frossard, E., 2003. Isotope methods for assessing plant available phosphorus in acid tropical soils. *European Journal of Soil Science* 54: 605-616.
- Bünemann, E., 2003. Phosphorus dynamics in a Ferralsol under maize–fallow rotations: The role of the soil microbial biomass. Ph.D. Thesis, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich .
- Bünemann, E.K., Smithson, P.C., Jama, B., Frossard, E., Oberson, A., 2004a. Maize productivity and nutrient dynamics in maize-fallow rotations in western Kenya. *Plant and Soil* 264, 195-208.
- Bünemann, E.K., Steinebrunner, F., Smithson, P.C., Frossard, E., Oberson, A., 2004b. Phosphorus dynamics in a highly weathered soil as revealed by isotopic labeling techniques. *Soil Science Society of America Journal* 68, 1645-1655.
- Bünemann, E.K., Bossio, D.A., Smithson, P.C., Frossard, E., Oberson, A., 2004c. Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization. *Soil Biology & Biochemistry* 36, 889–901.
- Bünemann, E.K., Marschner, P., McNeill, A.M., McLaughlin, M.J., 2007. Measuring rates of gross and net mineralisation of organic phosphorus in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 39, 900-913.
- Bünemann, E.K., Oberson, A., Liebisch, F., Keller, F., Annaheim, K.E., Huguenin-Elie, O., Frossard, E., 2012. Rapid microbial phosphorus immobilization dominates gross phosphorus fluxes in a grassland soil with low inorganic phosphorus availability. *Soil Biology & Biochemistry* 51, 84-95.
- Butterly, C.R., Bünemann, E.K., McNeill, A.M., Baldock, J.A., Marschner, P., 2009. Carbon pulses but not phosphorus pulses are related to decreases in microbial biomass during repeated drying and rewetting of soils. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1406-1416.
- Celi, L., Barberis, E., Marsan, F.A., 2000. Sorption of phosphate on goethite at high concentrations. *Soil Science* 165: 657-664.
- Chapman, P.J., Edwards, A.C., Shand, C.A., 1997. The phosphorus composition of soil solutions and soil leachates: Influence of soil: solution ratio. *European Journal of Soil Science* 48:703-710.
- Cobelli, C., Foster, D., Toffolo, G., 2000. Tracer kinetics in biomedical research : from data to model. New York [u.a.] : Kluwer Academic/Plenum Publ., 2000.

- Coleman, D.C., Oades, J.M., Uehara, G. (Eds.), 1989. Dynamics of Soil Organic Matter in Tropical Ecosystems, University of Hawaii Press, Honolulu, HI.
- Collomb P. 1999. Une voie étroite pour la sécurité alimentaire d'ici à 2050. FAO, Rome
- Dabin, B., 1971. Evolution des engrais phosphatés dans un sol ferrallitique dans un essai de longue durée. ORSTOM 58, 1-14.
- Dalal, R.C., 1977. Soil organic phosphorus. *Advances in Agronomy* 29, 83-117.
- Delstanche, S., Opfergelt, S., Cardinal, D., Elsass, F., Andre, L., Delvaux, B., 2009. Silicon isotopic fractionation during adsorption of aqueous monosilicic acid onto iron oxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 73: 923-934.
- Demaria, P., Flisch, R., Frossard, E., Sinaj, S., 2005. Exchangeability of phosphate extracted by four chemical methods. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 168, 89-93.
- Dorel, M., Roger-Estrade, J., Manichon, H., Delvaux, B., 2000. Porosity and soil water properties of Caribbean volcanic ash soils. *Soil Use and Management* 16: 133-140.
- Douzet, J.-M., B. Muller, E. Scopel, A. Albrecht, J. Rakotoarisoa, and M.H.Rakotoalibera. 2007. Réduction du ruissellement et de l'érosion par les SCV pour les cultures pluviales des hautes terres malgaches. In FFEM (ed.), *Les sols tropicaux en semis-direct sous couvertures végétales: Séminaire international*. Antananarivo.
- Douxchamps, S., Frossard, E., Bernasconi, S. M., van der Hoek, R., Schmidt, A., Rao, I. M., Oberson, A., 2010. Nitrogen recoveries from organic amendments in crop and soil assessed by isotope techniques under tropical field conditions. *Plant and Soil* 341, 179–192.
- Drechsel, P., Gyiele, L., Kunze, D., & Cofie, O., 2001. Population density, soil nutrient depletion, and economic growth in sub-Saharan Africa. *Ecological Economics* 38(2): 251-258.
- Du, Y.M., Tian, J., Liao, H., Bai, C.J., Yan, X.L., Liu, G.D., 2009. Aluminium tolerance and high phosphorus efficiency helps *Stylosanthes* better adapt to low-P acid soils. *Annals of Botany* 103, 1239-1247.
- Dusserre, J., Audebert, A., Radanielson, A., Chopart, J.-L, 2009. Towards a simple generic model for upland rice root length density estimation from root intersections on soil profile. *Plant and Soil* 325(1-2): 277–288.
- Erenstein, O., 2002. Crop residue mulching in tropical and semi-tropical countries: An evaluation of residue availability and other technological implications. *Soil and Tillage. Research* 67: 115-133.
- Fairhurst, T., Lefroy, R.D.B., Mutert, E., Batjes, N., 1999. The importance, distribution and causes of phosphorus deficiency as a constraint to crop production in the tropics. *Agroforestry Forum* 9, 2-8.
- FAO, 1998. World reference base for soils resources. ISRIC,ISSS, Rome.

- FAO, 2008. An international technical workshop. Investing in sustainable crop intensification. The case for improving soil health. Integrated crop management vol 6, plant production and protection division, FAO, Rome
- FAO, 2009. How to feed the world in 2050.  
[http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/expert\\_paper/How\\_to\\_Feed\\_the\\_World\\_in\\_2050.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/expert_paper/How_to_Feed_the_World_in_2050.pdf)
- FAO, 2012. FAO:AG:Conservation agriculture. Agriculture Available at  
<http://www.fao.org/ag/ca/1a.html> (verified 11 April 2012).
- FAO/ISRIC/ISSS (1998). World reference base for soil resources. Rome, FAO.
- Fardeau, J.C., 1993. Available soil phosphate – its representation by a functional multiple compartmental model. *Agronomie* 13, 317-331.
- Fardeau, J.C., 1996. Dynamics of phosphate in soils. An isotopic outlook. *Fertilizer Research* 45: 91-100.
- Fardeau, J.C., Guiraud, G., Marol, C., 1996. The role of isotopic techniques on the evaluation of the agronomic effectiveness of P fertilizers. *Fertilizer Research* 45,101-109.
- Fardeau, J.C., Morel, C., Boniface, R., 1988. Why the Olsen method should be used to estimate available soil-phosphorus. *Agronomie* 8, 577-584.
- Fardeau J.C., Morel C., Boniface, R., 1991. Cinétiques de transfert des ions phosphates du sol vers la solution du sol: paramètres caractéristiques. *Agronomie*, 11: 787-797
- Frossard, E., Achat, D.L., Bernasconi, S.M., Bunemann, E.K., Fardeau, J.-C., Jansa, J., Morel, C., Rabeharisoa, L., Randriamanantsoa, L., Sinaj, S., Tamburini, F., Oberson, A., 2011. The use of tracers to investigate phosphate cycling in soil/plant systems. In: E.K. Bunemann, A. Oberson and E. Frossard (Eds.), *Phosphorus in action - biological processes in soil phosphorus cycling*. Springer-Verlag., Berlin, pp. 59-91.
- Frossard, E., Bünemann, E. K., Jansa, J., Oberson, A., Feller, C., 2009. Concepts and practices of nutrient management in agro-ecosystems: Can we draw lessons from history to design future sustainable agricultural production systems? *Die Bodenkultur* 60 (1): 43-60.
- Frossard, E., Condon, L.M., Oberson, A., Sinaj, S., Fardeau, J.C., 2000. Processes governing phosphorus availability in temperate soils. *Journal of Environmental Quality* 29, 15-23.
- Frossard, E., Sinaj, S., 1997. The isotope exchange kinetic technique: a method to describe the availability of inorganic nutrients. Applications to K, P, S and Zn. *Isotopes in Environmental and Health Studies* 33:61–77.
- Frossard E., Sinaj, S., Zhang, L.M., Morel, J.L. 1996 .The fate of sludge phosphorus in soil-plant systems. *Soil Science Society of America Journal* 60,1248-1253.
- Frossard, E., Feller, C., Tiessen, H., Stewart, J.W.B., Fardeau, J.C., Morel, J.L., 1993. Can an isotopic method allow for the determination of the phosphate fixing capacity of soils? *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 24: 367-377.

- Gallet, 2003. Uptake of residual phosphate and freshly applied diammonium phosphate by *Lolium perenne* and *Trifolium repens* (vol 166, pg 557, 2003). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 166, 782-782.
- Gallet, A., Flisch, R., Ryser, J.-P., Frossard, E., Sinaj, S., 2003. Effect of phosphate fertilization on crop yield and soil phosphorus status. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166, 568-578.
- Gaume A., Weidler, P., Frossard, E., 2000. Effect of maize mucilage on P adsorption and exchangeability on a synthetic ferrihydrite. *Biology and Fertility of Soils* 31: 525-532.
- Gijsman, A.J., Alcaron, H.F., Thomas, R.T., 1997. Root decomposition in tropical grasses and legumes as affected by soil texture and season. *Soil Biology & Biochemistry* 29: 1443-1450.
- Gijsman, A.J., Sanz, J.I., 1998. Soil organic matter pools in a volcanic-ash soil under fallow or cultivation with applied chicken manure. *European Journal of Soil Science* 49, 427-436.
- Gilbert, G.A., Knight, J.D., Vance, C.P., Allan, D.L., 1999. Acid phosphatase activity in phosphorus-deficient white lupin roots. *Plant Cell and Environment* 22: 801-810.
- Giller, K.E., Wilson, K.J., 1991. *Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems*. CAB International
- Giller, K.E., Witter, E., Corbeels, M., Tittonell, P., 2009. Conservation agriculture and smallholder farming in Africa: The heretics' view. *Field Crops Research* 114: 23-34.
- Goldberg, T., Archer, C., Vance, D., Poulton, S.W., 2009. Mo isotope fractionation during adsorption to Fe (oxyhydr)oxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 73: 6502-6516.
- Grierson, P.F., Comerford, N.B., Jokela, E.J., 1998. Phosphorus mineralization kinetics and response of microbial phosphorus to drying and rewetting in a Florida spodosol. *Soil biology & biochemistry* 30, 1323-1331.
- Hammond, L.L., Chien, S.H., Mokwunye, A.U., 1986. Agronomic value of unacidulated and partially acidulated phosphate rocks indigenous to the tropics. *Advance in Agronomy* 40, 89-140.
- Hamon, R.E., McLaughlin, M.J., 2002. Interferences in the determination of isotopically exchangeable P in soils and a method to minimise them. *Australian Journal of Soil Research* 40: 1383-1397.
- Hens, M., Merckx, R., 2002. The role of colloidal particles in the speciation and analysis of "dissolved" phosphorus. *Water Research* 36, 1483-1492.
- Hiemstra, T., Antelo, J., Rahnemaie, R., van Riemsdijk, W.H., 2010. Nanoparticles in natural systems I: The effective reactive surface area of the natural oxide fraction in field samples. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74: 41-58
- Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil* 237, 173-195.

- Hinsinger, P., Jaillard, B., Le Cadre, E., Plassard, C., 2007. Spéciation et phytodisponibilité du phosphore dans la rhizosphère "Speciation and bioavailability of phosphorus in the rhizosphere". *Océanis* 33, 37-50.
- Hood, R., 2001. Evaluation of a new approach to the nitrogen-15 isotope dilution technique, to estimate crop N uptake from organic residues in the field. *Biology and Fertility of Soils* 34, 156-161.
- Hsu, P.H., 1976. Comparison of iron (III) and aluminium in precipitation of phosphate from solution. *Water Research* 10, 903- 907.
- Ilg, K., Dominik, P., Kaupenjohann, M., Siemens, J., 2008. Phosphorus-induced mobilization of colloids: model systems and soils. *European Journal of Soil Science* 59: 233-246.
- Iyamuremye, F., Dick, R.P., 1996. Organic amendments and phosphorus sorption by soils. *Advances in Agronomy*, Vol 56 56, 139-185.
- Jaisi, D.P., Blake, R.E., Kukkadapu, R.K., 2010. Fractionation of oxygen isotopes in phosphate during its interactions with iron oxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74: 1309-1319.
- Jakobsen I, Abbott L.K., Robson A.D., 1992. External Hyphae of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with *Trifolium-Subterraneum* L .2. Hyphal Transport of P-32 over Defined Distances. *New Phytologist* 120: 509-516
- Jansa, J, Finlay, R., Wallander, H., Smith, F.A., Smith, S.E., 2011. Role of mycorrhizal symbioses in phosphorus cycling. In: E.K. Bunemann, A. Oberson and E. Frossard (Eds.), *Phosphorus in action - biological processes in soil phosphorus cycling*. Springer-Verlag., Berlin, pp. 137-168.
- Jansa, J., Mozafar, A., Kuhn, G., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I.R., Frossard, E., 2003. Soil tillage affects the community structure of mycorrhizal fungi in maize roots. *Ecological Applications* 13: 1164-1176.
- Jayachandran, K., Schwab, A.P., Hetrick, B.A.D., 1992. Partitioning dissolved inorganic and organic phosphorus using acidified molybdate and isobutanol. *Soil Science Society of America Journal* 56: 762-765.
- Jenkinson, D. S., Fox, R. H., Rayner, J. H., 1985. Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen - the so-called priming effect. *Journal of Soil Science* 36, 425-444.
- Kiba, D.I., Lompo, F., Compaore, E., Randriamanantsoa, L., Sedogo, P.M., Frossard, E., 2011. A decade of non-sorted solid urban wastes inputs safely increases sorghum yield in periurban areas of Burkina Faso. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B - Soil and Plant Science* 62: 59-69
- Koopmans, G.F., Chardon, W.J., van der Salm, C., 2005. Disturbance of water-extractable phosphorus determination by colloidal particles in a heavy clay soil from the Netherlands. *Journal of Environmental Quality* 34, 1446-1450.
- Kouno, K., Tuchiya, Y., Ando, T., 1995. Measurement of soil microbial biomass phosphorus by anion exchange membrane method. *Soil Biology & Biochemistry* 27, 1353-1357.

- Kuzyakov, Y., 2002. Review: Factors affecting rhizosphere priming effects. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 165, 382-396.
- Kwabiah, A.B., Palm, C.A., Stoskopf, N.C., Voroney, R.P., 2003. Response of soil microbial biomass dynamics to quality of plant materials with emphasis on P availability. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 207-216.
- Larsen, S., 1952. The use of  $^{32}\text{P}$  in the studies on the uptake of phosphorus by plants *Plant and Soil* 4, 1-10.
- Lindsay, W.L., Vlek, P.M., Chien, S.H., 1989. Allophane and imogolite. In J.B. Dixon and S.B. Weed (Eds). *Minerals in soil environments*. SSSA Madison, WI, pp. 1051-1087.
- Lindsay, W. L., Stephenson H. F., 1959. Nature of the reactions of monocalcium phosphate monohydrate in Soils: II. Dissolution and Precipitation reactions involving iron, aluminum, manganese and calcium. *Soil Science Society of America Journal* 23: 18-22.
- Loeppert, R. H., Inskip, W. P., 1996. Iron. *Methods of Soil Analyses Part 3 - Chemical Methods*. D. L. Sparks. Madison, Wisconsin, USA, Soil Science Society of America. 5: 639-664.
- Lopez-Hernandez, D., Brossard, M., Frossard, E., 1998. P-isotopic exchange values in relation to Po mineralisation in soils with very low P-sorbing capacities. *Soil Biology & Biochemistry* 30, 1663-1670.
- López-Hernández, D., Niño, M., Fardeau, J.C., Nannipieri, P., Chacón, P., 1989. Phosphorus accumulation in savanna termite mound in Venezuela. *Journal of Soil Science* 40: 635-640.
- Maertens, E., Thijs, A., Smolders, E., Degryse, F., Cong, P.T., Merckx, R., 2004. An anion resin membrane technique to overcome detection limits of isotopically exchanged P in P-sorbing soils. *European Journal of Soil Science* 55: 63-69.
- Marschner, H., 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press, London. 889 p.
- Masson, P., Morel, C., Martin, E., Oberson, A., Friesen, D., 2001. Comparison of soluble P in soil water extracts determined by ion chromatography, colorimetric, and inductively coupled plasma techniques in PPB range. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 32, 2241-2253.
- McGill, W.B., Cole, C.V., 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma* 26, 267-286.
- McKeague, J.A., Day, D.H., 1966. Dithionite and oxalate-extractable Fe and Al as aids in differentiating various classes of soils. *Canadian Journal of Soil Science* 46: 13-22.
- McLaughlin, M.J., Alston, A.M., Martin, J.K., 1988. Phosphorus cycling in wheat-pasture rotations. 1. The source of phosphorus taken up by wheat. *Australian Journal of Soil Research* 26, 323-331.
- Mehra, O.P., Jackson, M.L., 1960. Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. *Clays and Clay Minerals* 7: 317-327.

- Messiga, A.J., Ziadi, N., Plenet, D., Parent, L.E., Morel, C., 2010. Long-term changes in soil phosphorus status related to P budgets under maize monoculture and mineral P fertilization. *Soil Use and Management* 26: 354-364.
- Michellon, R., O. Husson, N. Moussa, M.T. Randrianjafizanaka, K. Naudin, P. Letourmy, N. Raveloarivoana, F. Enjalric, E. Penot, L. Séguy, A.-P. Andrianaivo, and Rakotondramana, 2011. *Striga asiatica*: a driving-force for dissemination of conservation agriculture systems based on *Stylosanthes guianensis* in Madagascar. p. 213–214. In *Resilient food systems for a changing world / 5th World Congress of Conservation Agriculture (WCCA) incorporating 3rd Farming System Design Conference, Brisbane, Australia, 26-29 september, 2011*.
- Mook, W.G., 2000. Volume I : Introduction, Theory methods review. In: W.G. Mook (Eds.), *Environmental Isotopes in the Hydrological Cycle - Principles and Applications*. UNESCO/IAEA Series.
- Morel, C. 2002. Caractérisation de la phytodisponibilité du phosphore du sol par la modélisation du transfert des ions phosphates entre le sol et la solution. Considérations théoriques et analyses du cycle de P et du comportement des plantes dans les parcelles de grandes cultures. Mémoire d'HDR à l'Institut National Polytechnique de Lorraine, 80 p.
- Morel, C., Fardeau, J.C., 1989a. The uptake by crops of fresh and residual phosphatic fertilizers by simultaneous measurements with  $^{32}\text{P}$  and  $^{33}\text{P}$ . *Applied Radiation and Isotopes* 40, 273–278
- Morel, C., Fardeau, J.C. 1989b. Native soil and fresh fertilizer phosphorus uptake as affected by rate of application and P fertilizers. *Plant and Soil* 115, 123–128
- Morel, C., Tunney, H., Plenet, D., Pellerin, S., 2000. Transfer of phosphate ions between soil and solution. *Perspectives in soil testing. Journal of Environmental Quality*, 29, 50 – 59.
- Mosse B., Hayman D.S., Arnold D.J., 1973. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. V. Phosphate uptake by three plant species from P-deficient soils labelled with  $^{32}\text{P}$ . *New Phytologist* 72: 809-815.
- Muhr, L., Tarawali, S.A., Peters, M., Schultze-Kraft, R. 1999. Forage legumes for improved fallows in agropastoral systems of subhumid West Africa. III. Nutrient import and export by forage legumes and their rotational effects on subsequent maize. *Tropical Grasslands* 33, 245–256.
- Brand J. and Pfund J.L. 1998. *Agriculture Ecosystems and the Environment* 71: 169-183.
- Mukuralinda, A., Tenywa, J., Verchot, L., Obua, J., Namirembe, S., 2009. Decomposition and phosphorus release of agroforestry shrub residues and the effect on maize yield in acidic soils of Rubona, southern Rwanda. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 84, 155-166.

- Murphy, D.V., Recous, S., Stockdale, E.A., Fillery, I.R.P., Jensen, L.S., Hatch, D.J., Goulding, K.W.T., 2003. Gross nitrogen fluxes in soils: Theory, measurement and application of N-15 pool dilution techniques. *Advances in Agronomy*: 69-118.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27: 31-36.
- Myers, R.J.K., van Noordwijk, M., Vityakon, P., 1997. Synchrony of nutrient release and plant demand: plant litter quality, soil environment and farmer management options, In: Cadisch, G., Giller, K.E. (Eds.), *Driven by nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. CAB International, Wallingford, pp. 215-229.
- Nanzer, S., 2013. Evaluation of a fertilizer from sewage sludge ashes: a journey from the molecule to the field. Ph.D. Thesis, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich.
- Naudin, K., Scopel, E., Andriamandroso, A.L.H., Rakotosolofa, M., Ratsimbazafy, N.R.S.A., Rakotozandriny, J.N., Salgado, P., Giller, K.E., 2012. Trade-offs between biomass use and soil cover. The case of rice-based cropping systems in the lake Alaotra region of Madagascar. *Experimental Agriculture* 48, 194-209.
- Nziguheba, G., Bünemann, E.K., 2005. Organic phosphorus dynamics in tropical agroecosystems. In: Turner, B.L., Frossard, E., Baldwin, D. (Eds.), *Organic phosphorus in the environment*. CABI, Wallingford, Oxon, UK, pp. 243-268.
- Nziguheba, G., Merckx, R., Palm, C.A., Rao, M.R., 2000. Organic residues affect phosphorus availability and maize yields in a Nitisol of western Kenya. *Biology and Fertility of Soils* 32, 328-339.
- Oberson, A., Bünemann, E. K., Friesen, D. K., Rao, I. M., Smithson, P. C., Turner, B. L., Frossard, E., 2006. Improving phosphorus fertility in tropical soils through biological interventions. In: Uphoff, N., Ball, A. S., Fernandes, E., Herren, H., Husson, O., Laing, M., Palm, C., Pretty, J., Sanchez, P., Sanginga N., Thies J. (Eds.), *Biological approaches to sustainable soil systems*. CRC Press, Boca Raton FL, pp. 531-546.
- Oberson, A., Friesen, D.K., Tiessen, H., Morel, C., Stahel, W., 1999. Phosphorus status and cycling in native savanna and improved pastures on an acid low-P Colombian Oxisol. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 55: 77-88.
- Oberson, A., Joner, E.J., 2005. Microbial turnover of phosphorus in soil. In: Turner, B.L., Frossard, E., Baldwin, D. (Eds.), *Organic phosphorus in the environment*. CABI, Wallingford, Oxon, UK, pp. 133-164.
- Oberson, A., Pypers, P., Bünemann, E.K., Frossard, E., 2011. Management impacts on biological phosphorus cycling in cropped soils. In: Bünemann, E.K., Oberson, A., Frossard, E. (Eds.), *Phosphorus in action-biological processes in soil phosphorus cycling*. Springer-Verlag., Berlin, pp. 431-458.
- Oberson, A., Tagmann, H.U., Langmeier, M., Dubois, D., Mäder, P., Frossard, E., 2010. Fresh and residual phosphorus uptake by ryegrass from soils with different fertilization histories. *Plant and Soil* 334, 391-407.

- Oehl, F., Oberson, A., Sinaj, S., Frossard, E., 2001. Organic phosphorus mineralization studies using isotopic dilution techniques. *Soil Science Society of America Journal* 65, 780-787.
- Oehl, F., Frossard, E., Fließbach, A., Dubois, D., Oberson, A., 2004. Basal organic phosphorus mineralization in soils under different farming systems. *Soil Biology & Biochemistry* 36, 667-675.
- Ognalaga, M., Frossard, E., Thomas, F., 1994. Glucose-1-phosphate and myoinositol hexaphosphate adsorption mechanisms on goethite. *Soil Science Society of America Journal* 58: 332-337.
- Olsen, S.R., Watanabe, F., 1957. A method to determine a phosphorus adsorption maximum of soils as measured by the Langmuir isotherm. *Soil Science Society of America Proceedings* 21: 144-149.
- Palm, C.A., Gachengo, C.N., Dalve, R.J.M., Cadish, G., Giller, K.E., 2001. Organic inputs for soil fertility management in tropical agro-ecosystems: application of an organic resources database. *Agriculture Ecosystems and Environment* 83:27-42.
- Parfitt, R.L., 1978. Anion adsorption by soil and soil materials. *Adv. Agron.* 30: 1-50.
- Parfitt, R.L., 1980. Chemical properties of variable charge soils. *Soils with variable charge*. B. K. G. Theng. Lower Hut, New Zealand Society of Soil Science: 167-194.
- Plassard, C., 1996. La mycorhization des plantes forestières en milieu aride et semi-arides : nutrition minérale en terrains calcaires. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 27-32.
- Pollet, T., Tadonleke, R.D., Humbert, J.F., 2011. Spatiotemporal Changes in the Structure and Composition of a Less-Abundant Bacterial Phylum (Planctomycetes) in Two Perialpine Lakes. *Applied and Environmental Microbiology* 77: 4811-4821.
- Pons, W.A., Guthrie, J.D., 1946. Determination of inorganic phosphorus in plant materials. *Industrial and Engineering Chemistry* 18: 184-186.
- Powell C.L., 1975. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VIII. Uptake of P by onion and clover infected with different endogone spore types in <sup>32</sup>P labelled soil. *New Phytologist* 75: 563-566.
- Pypers, P., Van Loon, L., Diels, J., Abaidoo, R., Smolders, E., Merckx, R., 2006. Plant-available P for maize and cowpea in P-deficient soils from the Nigerian Northern Guinea Savanna - Comparison of E- and L-values. *Plant and Soil* 283, 251-264.
- Rabeharisoa, L., 2004. Gestion de la fertilité et de la fertilisation phosphatée des sols ferallitiques des Hautes Terres de Madagascar. Faculty of Science, University of Antananarivo, p. 213.
- Rabeharisoa, L., Razanakoto, O.R., Razafimanantsoa, M.P., Rakotoson, T., Amery, F., Smolders, E., 2012. Larger bioavailability of soil phosphorus for irrigated rice compared with rainfed rice in Madagascar: results from a soil and plant survey. *Soil Use and Management* 28, 448-456.

- Rakotondravelo, J.C., 2003. Les grands systèmes de culture des petites exploitations malgaches et les modes de reproduction de la fertilité des sols. Actes du Colloque scientifique international « Sol, environnement et développement » organisé dans le cadre de la célébration du centenaire de l'AcNALS. Mém. Acad. Nat. Art Lett. Sc., 49.
- Rakotondravelo J.C., Randrianariveloseheno, A., 2011. Stage de monographie villageoise et étude des systèmes de production ESSA 2010-2011, synthèse. pp.24.
- Randhawa, P.S., Condron, L.M., Di, H.J., Sinaj, S., McLenaghan, R.D., 2005. Effect of green manure addition on soil organic phosphorus mineralisation. Nutrient cycling in Agroecosystems 73, 181-189.
- Randriamanantsoa, L., 2008. Stage sur la manipulation des radioisotopes de phosphore en en Agronomie. Rapport technique AIEA. pp. 31
- Randriamanantsoa, L. , Morel, C. , Rabeharisoa , L., Douzet, J.M., Jansa, J., Frossard, E., 2013. Can the isotopic exchange kinetic method be used in soils with a very low water extractable phosphate content and a high sorbing capacity for phosphate ions? Geoderma. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.01.019>.
- Razafimahatratra, H. M., 2011. Sols malgaches et spectroscopie dans le moyen infrarouge: classification, caractérisation et sensibilité au climat. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, University of Antananarivo, p. 214.
- Saito, K., Linquist, B., Keobualapha, B., Phanthaboon, K., Shiraiwa, T., Horie, T., 2006. *Stylosanthes guianensis* as a short-term fallow crop for improving upland rice productivity in northern Laos. Field Crops Research 96, 438-447.
- Salcedo, I.H., Bertino, F., Sampaio, E., 1991. Reactivity of phosphorus in northeastern Brazilian soils assessed by isotopic dilution. Soil Science Society of America Journal 55: 140-145.
- Sanchez, P., Shepherd, K., Soule, M., Place, F., Buresh, R., Izac, A., et al., 1997. Soil Fertility replenishment in Africa : An Investment in Natural Resource Capital. In: Buresh, R.J., Sanchez, P.A., Calhoun, F. (Eds.), Replenishing soil fertility in Africa. SSSA Spec. Publ., Madison, WI, pp. 1-46.
- Saunders, H., Williams, E.G., 1955. Observations on the determination of total organic phosphorus in soils. Journal of Soil Science 6 , 255-257.
- Schack-Kirchner, H., Fenner, P. T., Hildebrand, E. E., 2007. Different responses in bulk density and saturated hydraulic conductivity to soil deformation by logging machinery on a Ferralsol under native forest. Soil Use and Management 23: 286-293.
- Schefe, C.R., Patti, A.F., Clune, T.S., Jackson, R., 2008. Organic amendments increase soil solution phosphate concentrations in an acid soil: A controlled environment study. Soil Science 173, 267-276.
- Schwertmann, U., Cornell, R., 2000. Iron oxides in the laboratory. Preparation and characterization. Wiley-VCH, Weinheim.

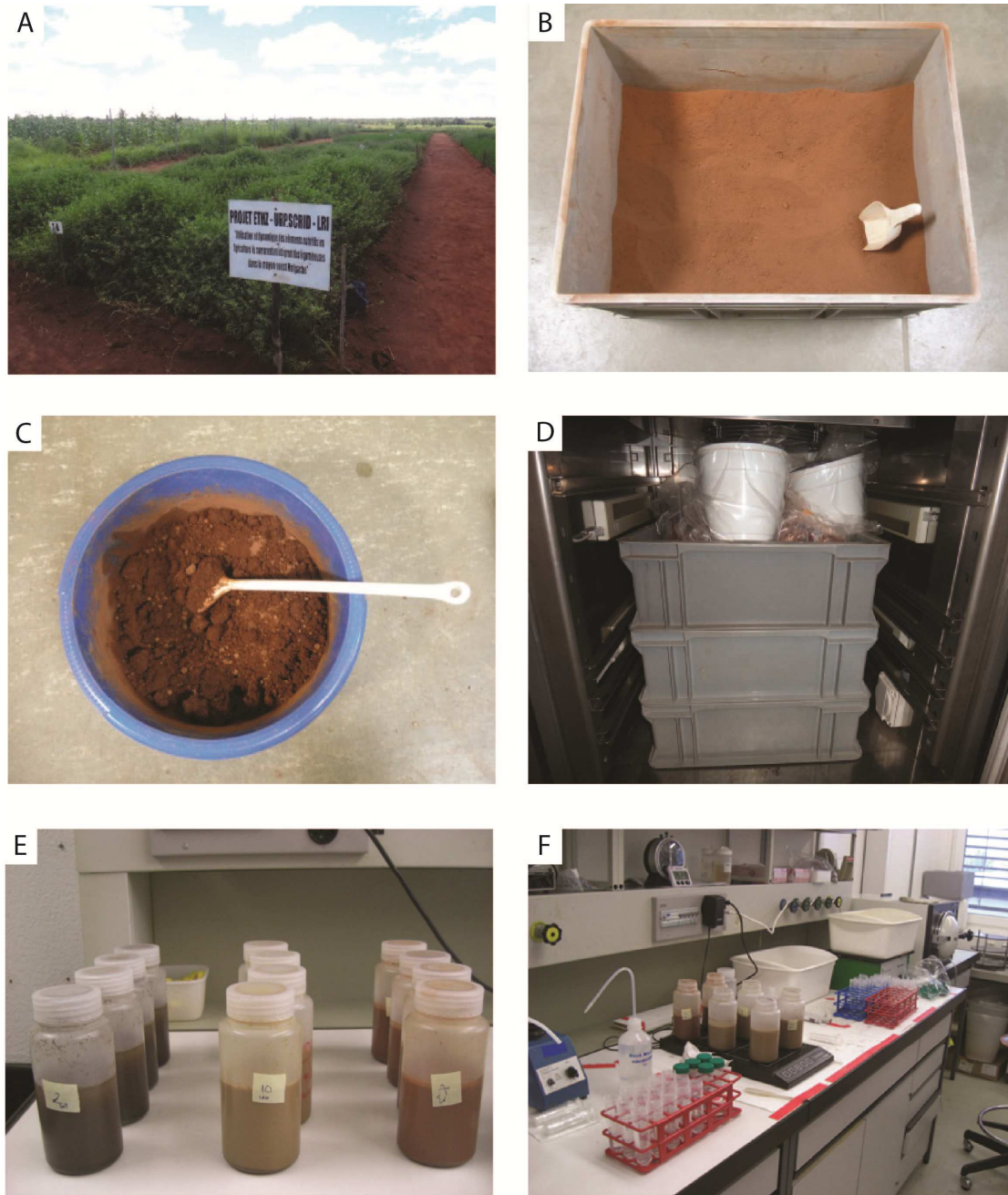
- Seguy, L., Husson, O., Charpentier, H., Bouzinac, S., Michellon, R., Chabanne, A., et al. (2009). Chapitre 1:Principes et fonctionnement des écosystèmes cultivés en semis direct sur couverture végétale permanente.Volume I. CIRAD - TAFA- GSDM - AFD - MAEP. <http://Agroecologie.cirad.fr>. 32 p.
- Séguy, L., Bouzinac, S. Husson, O., 2006. Direct-seeded tropical soil systems with permanent soil cover. In: Biological approaches to sustainable soil systems. Ed. N. Uphoff et al. CRC Taylor & Francis. pp. 323-342
- Sharpley, A.N., Ahuja, L.R., Yamamoto, M., Menzel, R.G., 1981. The kinetics of phosphorus desorption from soil. *Soil Science Society of America Journal* 45, 493-496.
- Sikora, F.J., Giordano, P.M., 1995. Future directions for agriculture phosphorus research. *Fertilizer Research* 41, 167-178.
- Sinaj, S., Machler, F., Frossard, E., Faisse, C., Oberson, A., Morel, C., 1998. Interference of colloidal particles in the determination of orthophosphate concentrations in soil water extracts. *Commun. Soil Science and Plant Analysis* 29: 1091-1105.
- Sinaj S., Traore, O., Frossard E. (2002) Effect of compost and soil properties on the availability of compost phosphate for white clover (*Trifolium repens* L.). *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 62:89-102. DOI: 10.1023/a:1015128610158.
- Singh, B. B., Jones, J. P., 1976. Phosphorous Sorption and Desorption Characteristics of Soil as Affected by Organic Residues. *Soil Science Society of America Journal* 40, 389-394.
- Six, L., Pypers, P., Degryse, F., Smolders, E., Merckx, R., 2012. The performance of DGT versus conventional soil phosphorus tests in tropical soils - an isotope dilution study. *Plant and Soil*. doi: 10.1007/s11104-012-1192-9
- Tang, C., Drevon, J.J., Jaillard, B., Souche, G., Hinsinger, P., 2004. Proton release of two genotypes of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by N nutrition and P deficiency : New challenges for rhizosphere research at the entrance of the 21st Century. *Plant and Soil* 260, 59-68.
- Tian, G., 1998.Effect of soil degradation on leaf decomposition and nutrient release under humid tropical conditions. *Soil Science* 163: 897-906.
- Tiessen, H., Moir, J., 2007. Characterization of available P by sequential extraction, soil sampling and methods of analysis, Second edition, CRC Press.
- Tiessen, H., Sampaio, E.V.S.B., Salcedo, I.H., 2001. Organic matter turnover and management in low input agriculture of NE Brazil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 61, 99–103.
- Tiessen, H., Shang, C., 1998.Organic matter turnover in tropical land use systems, In: *Carbon and Nutrient Dynamics in Natural and Agricultural Tropical Ecosystems*, Bergström, L. and Kirchmann, H., Eds., CAB International, Wallingford, UK, 1–14.
- Turner, B.L., 2006. Organic phosphorus in Madagascan rice soils. *Geoderma* 136, 279-288.
- Turner, B.L., Frossard, E., Oberson, A., 2006. Enhancing phosphorus availability in low-fertility soils. *Biological Approaches to Sustainable Soil Systems* 113, 191-205.

- UNPP (2008) World population prospects: The 2008 revision. United Nations Population Division, New York
- UPDR/FAO, 2001. Diagnostic et perspectives de développement de la filière riz à Madagascar. Ministère de l'Agriculture – FAO, Antananarivo, 92p.
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. Microbial biomass measurements in forest soils: The use of the chloroform fumigation-incubation method in a strongly acid soils. *Soil Biology & Biochemistry* 19, 697-702.
- Vanden B., 1999. Devenir du phosphore apporté sur les sols et risques de contamination des eaux de surface. Cas des boues des stations d'épuration. Thèse de Doctorat de l'Université de Rennes 1, n° d'ordre 2263. 282p.
- Vanlauwe, B., Bationo, A., Chianu, J., Giller, K. E., Mercks, R., Mkwunye, U., Ohiokpehai, O., Pypers, P., Tabo, R., Shepherd, K., Smaling, E., Woomer, P. L., Sanginga, N., 2010. Integrated soil fertility management: Operational definition and consequences for implementation and dissemination. *Outlook on Agriculture* 39, 17-24.
- Vanlauwe, B., Ramisch, J., Sanginga, N., 2006. Integrated soil fertility management in Africa: From knowledge to implementation. In: Uphoff, N., Ball, A., Fernandez, E, Herren, H., Husson, O., Laing, M., Palm, C., Pretty, J., Sanchez, P. (eds). *Biological Approaches to Sustainable Soil Systems*. CRC Press, Boca Raton. USA. pp 257-272.
- Van Moorlehem, C., Six, L., Degryse, F., Smolders, E., Merckx, R., 2011. Effect of organic P forms and P present in inorganic colloids on the determination of dissolved P in environmental samples by the Diffusive Gradient in thin films Technique, ion chromatography, and colorimetry. *Analytical Chemistry* 83: 5317-5323.
- van Veldhoven, P.P., Mannaerts, G.P., 1987. Inorganic and organic phosphate measurements in the nanomolar range. *Analytical Biochemistry*, 161: 45-48.
- Villenave, C., Rabary, B., Kichenin, E., Djigal, D., Blanchart, E., 2010. Earthworms and plant residues modify nematodes in tropical cropping soils (Madagascar): A mesocosm experiment. *Applied and Environmental Soil Science* 2010: 1–7.
- Walbridge, M.R., Vitousek, P.M., 1987. Phosphorus mineralization potentials in acid organic soils: Processes affecting  $^{32}\text{PO}_4^{3-}$  isotope dilution measurements. *Soil Biology & Biochemistry* 19, 709-717.
- Walker, T. and Syers, J., 1976. The fate of phosphorus during pedogenesis, *Geoderma* 15, 1–19.
- Wolf, A.M., Baker, D.E., Pionke, H.B., 1986. The measurement of labile phosphorus by the isotopic dilution and anion resin methods. *Soil Science* 141: 60-70.
- Yang, M., Yan, X.L., 1998. Preliminary studies on morphological and physiological mechanisms of *Stylosanthes* for P efficiency on acid soils. *Acta Agrestia Sinca* 6: 212–220.

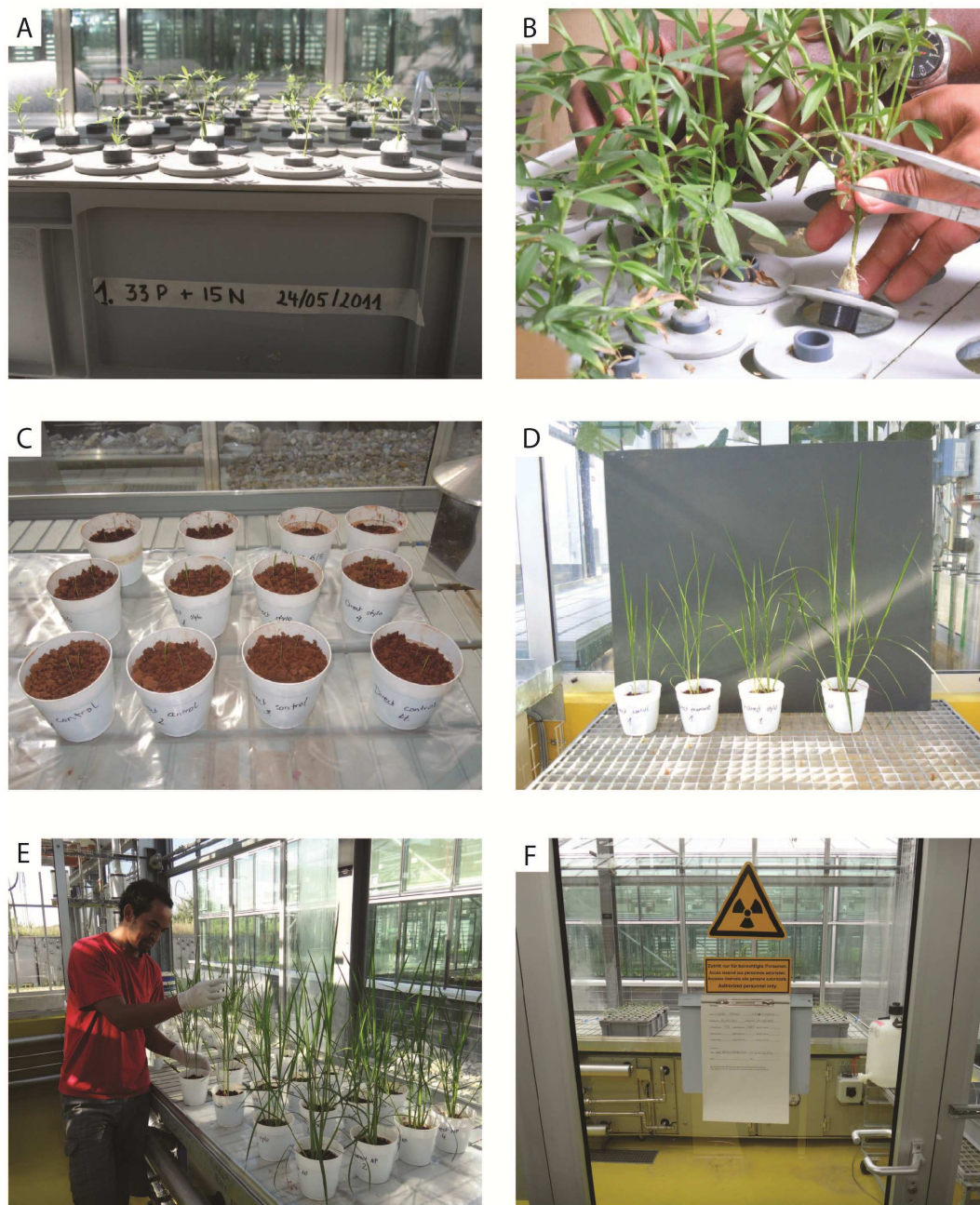
## **Annexes**



**Figure 1.** Chapitre 1 en photos: (A) Profil du sol à Ivory. (B) Récolte du riz à Ivory. (C) Utilisation de la «méthode de concentration à l'hexanol». (D) – (F) Concentration du CBPM dans l'hexanol.



**Figure 2.** Chapitre 2 en photos: (A) Dispositif expérimental à Ivory. (B) Homogénéisation des échantillons de sol. (C) Humidification du sol avant la pré-incubation. (D) Incubation de sol. (E) – (F) Expérience de CEI au laboratoire.



**Figure 3.** Chapitre 3 en photos: (A) Production de stylo marqué dans un système hydroponique. (B) Récolte du stylo six semaines après le transfert. (C) – (E) Essai en pot pour le riz pluvial utilisant la technique de marquage isotopique. (F) Serre spéciale pour la manipulation des produits radioactifs.







